

**EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG  
EKSTRAK ETANOL BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP  
AKTIVITAS ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS TERINDUKSI  
KARBON TETRAKLORIDA**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)  
Program Studi Farmasi



Oleh:

Komang Ayu Nopitasari

NIM : 108114008

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA  
2013**

**Persetujuan Pembimbing**

**EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG  
EKSTRAK ETANOL BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP  
AKTIVITAS ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS TERINDUKSI  
KARBON TETRAKLORIDA**

Skripsi yang diajukan oleh:

Komang Ayu Nopitasari

NIM: 108114008

Telah disetujui oleh:

Pembimbing



Phebe Hendra, M.Si., Ph.D., Apt

tanggal : 30 September 2013

**Pengesahan Skripsi Berjudul**

**EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG  
EKSTRAK ETANOL BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP  
AKTIVITAS ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS TERINDUKSI  
KARBON TETRAKLORIDA**

Oleh :  
Komang Ayu Nopitasari  
NIM: 108114008

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi  
Universitas Sanata Dharma  
pada tanggal : 25 Oktober 2013

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Sanata Dharma  
Dekan



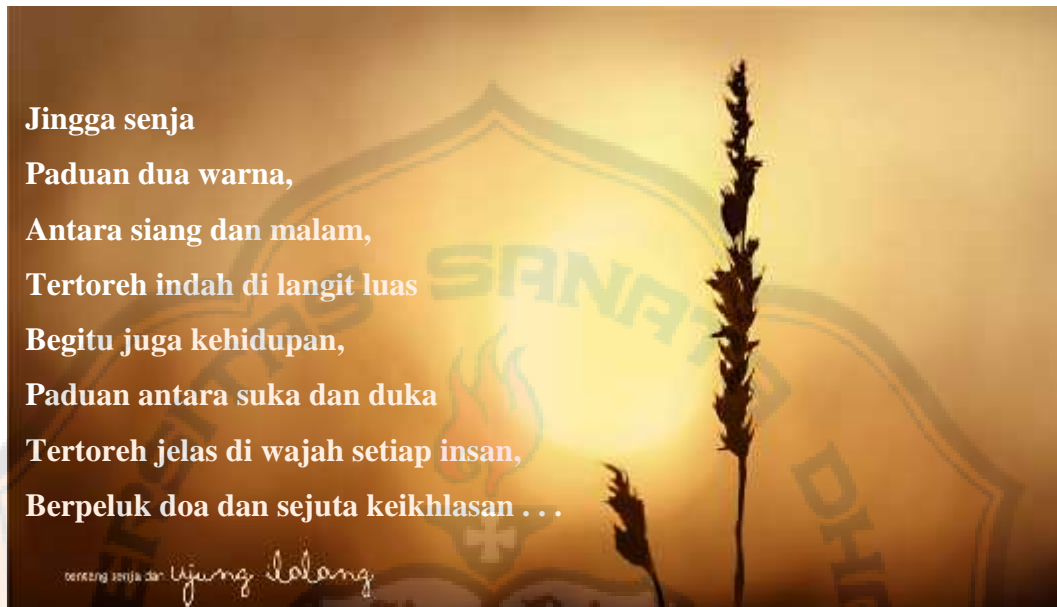
(Ipang Djunarko, M. Sc., Apt.)

**Panitia Penguji Skripsi**

1. Phebe Hendra, M.Si., Ph.D., Apt.
2. Ipang Djunarko, M. Sc., Apt.
3. Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt.

**Tanda Tangan**

**HALAMAN PERSEMBAHAN**



*“...kaki yang akan berjalan lebih jauh, tangan yang akan berbuat lebih banyak, mata yang akan menatap lebih lama, leher yang akan lebih sering melihat ke atas, lapisan tekad yang seribu kali lebih keras dari baja, dan hati yang akan bekerja lebih keras, serta mulut yang akan selalu berdoa...”*

*Donny Dirgantoro - 5 cm.*

*Kupersembahkan karya kecilku,  
Untuk segala keajaiban indah & rahmat, Tuhanku  
Untuk cahaya penuh kasih sayang & ketulusan, Mamaku  
Untuk kekuatan penuh cinta & tanggung jawab, Bapakku  
Untuk inspirasi kerja keras & kegigihan, Kakakku  
Untuk semangat & harapan, Sahabatku  
Untuk kebanggaan, Almamaterku*

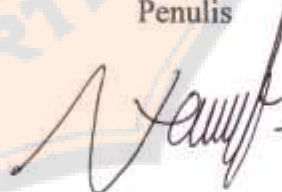
### PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul **EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG EKSTRAK ETANOL BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP AKTIVITAS ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS TERINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**, tidak memuat karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Yogyakarta, 30 September 2013

Penulis



(Komang Ayu Nopitasari)

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma

Nama : Komang Ayu Nopitasari

Nomor Mahasiswa : 108114008

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul :

**EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG  
EKSTRAK ETANOL BIJI *Persea americana* Mill. TERHADAP  
AKTIVITAS ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS TERINDUKSI  
KARBON TETRAKLORIDA**

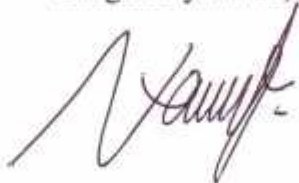
Beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk media lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di Internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin dari saya maupun memberikan *royalty* kepada saya selama tetap mencatumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini yang saya buat dengan sebenarnya,

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal : 30 September 2013

Yang menyatakan,



(Komang Ayu Nopitasari)



## PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat rahmat-Nya skripsi dengan judul “Efek Hepatoprotektif Pemberian Jangka Panjang Ekstrak Etanol Biji *Persea americana* Mill. Terhadap Aktivitas ALT dan AST Serum Pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida” dapat penulis selesaikan tepat pada waktunya. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.

Skripsi ini dapat penulis susun tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Untuk itu penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Ipang Djunarko, M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma dan selaku Posen Penguji skripsi yang telah banyak memberikan koreksi serta saran untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini
2. Ibu Phebe Hendra, M.Si., Ph.D., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah banyak meluangkan waktu, tenaga dan pikirannya dalam memberikan bimbingan, petunjuk, koreksi masukan dan motivasi kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
3. Bapak Prof. Dr. C. J. Soegihardjo, Apt. selaku Dosen Penguji skripsi yang telah banyak memberikan koreksi serta saran untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.

4. Ibu Rini Dwiastuti, M.Si., Apt. selaku Kepala Laboratorium Fakultas Farmasi yang telah memberikan ijin dalam penggunaan semua fasilitas laboratorium untuk kepentingan penelitian ini.
5. Bapak Yohanes Dwiatmaka, M.Si., atas bantuan dalam determinasi tanaman *Persea americana* Mill.
6. Ibu drh. Ari selaku dokter hewan di laboratorium Imono yang telah membantu dengan sabar dalam menyediakan hewan uji untuk penelitian ini.
7. Bapak Heru, Bapak Suparjiman, dan Bapak Kayatno selaku laboran bagian Farmakologi dan Toksikologi, Bapak Wagiran selaku laboran Farmakognosi Fitokimia, Bapak Suparlan selaku laboran Kimia Organik, serta Bapak Kunto selaku laboran Kimia Analisis atas segala bantuan selama pelaksanaan skripsi ini.
8. Keluarga yang selalu mengirimkan doa, menyalakan semangat, dan memberi dukungan dalam penyusunan skripsi ini (Ayah penulis I Ketut Sukasana, Ibu penulis Ni Nyoman Santiari, Kakak penulis I Gede Pande Juni Laksana, Kakak Ipar penulis Ni Nyoman Sudariani).
9. Putu Oksiadrian Pratama dengan kebaikan hati, ketulusan perhatian, dan penuh pengertian selalu memberikan semangat serta dukungan kepada penulis dalam penyusunan skripsi ini.
10. Teman-teman seperjuangan “Tim Alpukat 1” Rotua, Ita, Priscilla, Inneke Dian, Lidya, Dion, Ike, Angel, Dara, Irene, Robert, Liana, dan Yuditha



atas kerja sama, bantuan, suka duka, dan perjuangan dalam menyelesaikan skripsi sampai akhir.

11. Sahabat terkasih Pingky Purnama, Suci Ariestiani dan Ade Okky, atas semangat juang, dukungan, perhatian dan motivasi dalam suka maupun duka selama ini.

12. Semua pihak yang penulis tidak dapat sebutkan satu per satu yang turut membantu selama penyusunan skripsi ini berlangsung.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga masukan berupa saran sangat diharapkan agar skripsi ini menjadi lebih sempurna, dan akhir kata semoga skripsi ini berguna bagi semua pihak yang berkepentingan.

Yogyakarta, 30 September 2013



Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN .....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA .....	v
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS .....	vi
PRAKATA .....	vii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR GAMBAR .....	xvii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xix
INTISARI .....	xxi
<i>ABSTRACT</i> .....	xxii
BAB I. PENGANTAR .....	1
A. Latar Belakang.....	1
1. Perumusan masalah .....	4
2. Keaslian penelitian .....	5
3. Manfaat penelitian.....	5
B. Tujuan Penelitian .....	6
BAB II. PENELAAHAN PUSTAKA .....	7

A.	<i>Persea americana</i> Mill. ....	7
1.	Taksonomi .....	7
2.	Sinonim .....	7
3.	Nama lain ..	7
4.	Morfologi ..	8
5.	Kandungan kimia .....	8
6.	Khasiat dan kegunaan .....	9
B.	Hati .....	10
1	Anatomi dan fisiologi hati .....	10
2	Kerusakan hati .....	13
a.	Perlemakan hati ( <i>Steatosis</i> ) .....	13
b.	Kematian sel ( <i>Necrosis</i> ) .....	14
c.	Kolestasis .....	15
d.	Sirosis.....	16
C.	Alanin Transaminase (ALT) – Aspartate Aminotransferase (AST)	16
D.	Hepatotoksin .....	18
E.	Karbon Tetraklorida .....	19
F.	Metode Pengujian .....	21
1.	Tes enzim serum .....	21
2.	Tes ekskretori hepatik .....	22
3.	Analisis histologi kerusakan hati .....	22
4.	Perubahan kandungan kimia hati .....	22
G.	Metode Ekstraksi .....	23

H.	Landasan Teori .....	23
I.	Hipotesis .....	24
BAB III. METODE PENELITIAN .....		25
A.	Jenis dan Rancangan Penelitian .....	25
B.	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional .....	25
1.	Variabel utama .....	25
2.	Variabel pengacau .....	25
3.	Definisi operasional .....	26
C.	Bahan Penelitian .....	26
1.	Bahan utama .....	26
2.	Bahan kimia .....	26
D.	Alat Penelitian .....	28
1.	Alat ekstraksi .....	28
2.	Alat uji hepatoprotektif .....	28
E.	Tata Cara Penelitian .....	28
1.	Determinasi biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	28
2.	Pengumpulan bahan uji .....	29
3.	Pembuatan serbuk kering biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	29
4.	Penetapan kadar air serbuk kering biji <i>Persea americana</i> Mill..	29
5.	Pembuatan ekstrak biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	30
6.	Penetapan konsentrasi pekat ekstrak.....	31
7.	Penetapan dosis ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	31
8.	Pembuatan larutan karbon tetraklorida konsentrasi 50% .....	31

9	Pembuatan suspending agent CMC-Na 1 % .....	32
10	Uji pendahuluan .....	32
11	Pengelompokkan dan perlakuan hewan uji.....	33
12	Pembuatan serum .....	34
13	Penetapan aktivitas serum kontrol, serum ALT, dan serum AST.....	34
F.	Tata Cara Analisis Hasil .....	35
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN .....		36
A.	Penyiapan Bahan .....	36
1.	Hasil determinasi tanaman .....	36
2.	Penetapan kadar air serbuk biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	36
3.	Hasil penimbangan bobot ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill .....	37
B.	Uji Pendahuluan .....	38
1	Penentuan dosis hepatotoksin karbon tetraklorida.....	38
2	Penentuan waktu pencuplikan darah hewan uji .....	39
3	Penetapan lama pemejanaan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	42
4	Penetapan dosis ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	43
C.	Hasil Uji Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	43
1.	Kontrol negatif <i>olive oil</i> dosis 2 ml/kgBB .....	48
2.	Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB .....	50

3. Kontrol ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	51
4. Kontrol positif (curliv) dosis 4,05 ml/kgBB .....	52
5. Kelompok perlakuan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kg BB pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB .....	53
D. Rangkuman Pembahasan .....	58
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN .....	61
A. Kesimpulan .....	61
B. Saran .....	61
DAFTAR PUSTAKA .....	62
LAMPIRAN .....	67
BIOGRAFI PENULIS .....	93



## DAFTAR TABEL

Tabel I.	Peningkatan relatif dari beberapa serum enzim pada cidera hati .....	21
Tabel II.	Komposisi dan konsentrasi reagen serum ALT .....	27
Tabel III.	Komposisi dan konsentrasi reagen serum AST .....	27
Tabel IV.	Purata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam (n = 3) .....	39
Tabel V.	Hasil uji <i>Scheffe</i> aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam .....	40
Tabel VI.	Purata aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam (n = 3) .....	40
Tabel VII.	Hasil uji <i>Scheffe</i> aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam .....	41
Tabel VIII.	Purata $\pm$ SE aktivitas serum ALT dan AST tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak etanol biji <i>P. americana</i> terinduksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB (n = 5) .....	44
Tabel IX.	Hasil uji <i>Scheffe</i> aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada kelompok perlakuan.....	45

Tabel X.	Hasil uji <i>Scheffe</i> aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada kelompok perlakuan.....	46
Tabel XI.	Purata aktivitas serum ALT dan serum AST tikus setelah pemberian <i>olive oil</i> dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam (n = 5) .....	48
Tabel XII.	Hasil uji <i>T</i> aktivitas serum ALT dan serum AST tikus setelah pemberian <i>olive oil</i> dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam .....	49
Tabel XIII.	Nilai persen proteksi dan persen daya hepatoprotektif pada ketiga kelompok peringkat dosis perlakuan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill.....	56
Tabel XIV.	Penetapan kadar air ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	91
Tabel XV.	Hasil rendemen ekstrak biji <i>Persea americana</i> Mill.....	92
Tabel XVI.	Pengeringan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	92
Tabel XVII.	Hasil validitas dan reabilitas.....	93

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Struktur mikroskopik hati .....	12
Gambar 2.	Struktur mikroskopik hati yang mengalami steatosis .....	13
Gambar 3.	Struktur mikroskopik hati yang mengalami nekrosis .....	15
Gambar 4.	Mekanisme biotransformasi dan oksidasi karbon tetraklorida .....	20
Gambar 5.	Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam .....	39
Gambar 6.	Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam .....	41
Gambar 7.	Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak etanol biji <i>P. americana</i> 1 x sehari selama 6 hari terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB .....	47
Gambar 8.	Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak etanol biji <i>P. americana</i> 1 x sehari selama 6 hari terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB .....	47
Gambar 9.	Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian <i>olive oil</i> dosis 2 ml/kgBB pada	

selang waktu 0 dan 24 jam..... 49

Gambar 10. Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus

setelah pemberian *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada

selang waktu 0 dan 24 jam..... 49



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Foto serbuk biji <i>Persea americana</i> Mill.....	68
Lampiran 2.	Foto ekstrak kental biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	68
Lampiran 3.	Foto larutan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	68
Lampiran 4.	Surat pengesahan determinasi biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	69
Lampiran 5.	Determinasi biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	70
Lampiran 6.	Surat pengesahan <i>Medical and Health Research Ethics Committee</i> (MHREC).....	72
Lampiran 7.	Analisis statistik aktivitas serum ALT pada uji pendahuluan penentuan waktu pencuplikan darah .....	73
Lampiran 8.	Analisis statistik aktivitas serum AST pada uji pendahuluan penentuan waktu pencuplikan darah .....	75
Lampiran 9.	Analisis statistik aktivitas serum ALT dan AST perlakuan kontrol negatif <i>olive oil</i> dosis 2 ml/kgBB.....	78
Lampiran 10.	Analisis statistik aktivitas serum ALT perlakuan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. setelah induksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB .....	81
Lampiran 11.	Analisis statistik aktivitas serum AST perlakuan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. setelah induksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB .....	84

Lampiran 12.	Perhitungan efek hepatoprotektif (% proteksi).....	87
Lampiran 13.	Perhitungan konversi dosis untuk manusia .....	88
Lampiran 14.	Perhitungan penetapan peringkat dosis ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. kelompok perlakuan .....	89
Lampiran 15.	Penetapan kadar air serbuk biji <i>Persea americana</i> Mill. ....	90
Lampiran 16.	Hasil rendemen ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill.....	91
Lampiran 17.	Bobot pengeringan ekstrak etanol biji <i>Persea americana</i> Mill. hingga terbentuk ekstrak kental.....	91
Lampiran 18.	Pengukuran validitas dan realibilitas.....	92



## INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan informasi tentang pengaruh hepatoprotektif pemberian ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. jangka panjang dapat menurunkan aktivitas ALT dan AST serum pada tikus terinduksi karbon tetraklorida, serta mendapatkan besar efek hepatoprotektifnya.

Penelitian ini bersifat eksperimental murni dengan rancangan acak lengkap pola searah. Penelitian yang dilakukan menggunakan 35 ekor tikus jantan galur Wistar, umur 2-3 bulan, dan berat  $\pm$  150-200 gram. Tikus dibagi ke dalam tujuh kelompok perlakuan secara acak. Kelompok I (kontrol hepatotoksin) diberi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB secara ip. Kelompok II (kontrol negatif) diberi *olive oil* 2 ml/kgBB. Kelompok III (kontrol ekstrak) diberi ekstrak etanol biji *Persea americana* 1,40 g/kgBB. Kelompok IV (kontrol positif) diberi Curliv<sup>®</sup> 4,05 ml/kgBB. Kelompok V-VII (perlakuan) berturut-turut diberi ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB secara oral sekali sehari selama enam hari berturut-turut dan pada hari ke tujuh semua perlakuan diberi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB secara i.p. Kemudian setelah 24 jam, darah diambil dari sinus orbitalis mata untuk diukur aktivitas serum ALT dan AST. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. memberikan efek hepatoprotektif dengan menurunkan aktivitas serum ALT dan AST pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida. Tidak adanya kekerabatan dosis dengan respon yang muncul terlihat dari semakin besar dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. yang diberikan, besar efek hepatoprotektifnya hampir sama. Jadi ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. dosis 0,35; 0,70, dan 1,40 g/kgBB memiliki persen efek hepatoprotektif berturut-turut 76,8; 76,5; dan 72,4%.

**Kata kunci :** biji *Persea americana* Mill., etanol, hepatoprotektif, karbon tetraklorida

## ABSTRACT

This research is aimed at getting information about hepatoprotective effect of ethanol extract *Persea americana* Mill. seed for reducing activity of ALT and AST serum in rats induced by carbon tetrachloride and get a value of hepatoprotective effect.

This research was an experimental research with direct sampling design. This research used 35 Wistar male rats, age 2-3 months, and weight  $\pm$  150-200 g. The rats were divided into six treatment groups. The first group (hepatotoxin control) was given carbon tetrachloride 2 ml/kgBW i.p. Then, the second group (negative control) was given olive oil 2 ml/kgBW. Third group (extract control) was given water ethanol extract *Persea americana* Mill. seed 1.40 g/kgBW. The fourth group (positif control) was given Curliv<sup>®</sup> 4.05 ml/kgBW and then the fifth until seventh group (treatment) were given ethanol extract *Persea americana* Mill. seed dose 0.35; 0.70; dan 1.40 g/kgBW orally once a days for six days successively and then in the seventh day all of the treatments group were given carbon tetrachloride 2 ml/kgBW by i.p. Twenty-four hours later, blood was collected from the orbital sinus eye to be measured ALT and AST serum activity. It was analyzed statistically.

Based of the result of the research, ethanol extract *Persea americana* Mill. seed gave hepatoprotective effects for reducing activity of ALT and AST serum in rats induced by carbon tetrachloride. There was a relation between dose and response which were seen from the greater pre-experimental dose ethanol extract *Persea americana* Mill. seed given, thus the hepatoprotective was bigger. Hepatoprotective effect with dose of 0.35; 0.70; dan 1.40 g/kgBW successively were 76.8; 76.5; dan 72.4%

**Keywords :** *Persea americana* Mill. seed, ethanol, hepatoprotective, carbon tetrachloride

## **BAB I**

### **PENGANTAR**

#### **A. Latar Belakang**

Hati memegang peranan yang sangat penting dalam fungsi fisiologis tubuh. Hati merupakan tempat pembentukan lipid, albumin, dan beberapa protein plasma. Selain itu juga merupakan organ penting dalam proses biotransformasi senyawa endogen dan eksogen, misalnya amonia, hormon steroid, dan obat. Metabolisme karbohidrat, protein, dan lipid juga terjadi di hati (Wyngaarden, 1982). Demikian pula proses detoksifikasi sekaligus sebagai organ target yang sensitif terhadap senyawa toksik dilakukan oleh hati sehingga dapat dikatakan hati berfungsi sebagai pertahanan dan pelindung tubuh (Lu, 1995).

Sel hati dapat mengalami berbagai kerusakan yang bersifat reversibel (disfungsi hati) maupun ireversibel (kerusakan menetap). Beberapa penyakit hati seperti peradangan (hepatitis) hingga cedera hati (sirosis) disebabkan karena berbagai faktor, yaitu virus, obat-obatan, dan alkohol (Ganong dan McPhee, 2011). Prevalensi kerusakan hati di dunia menunjukkan jumlah yang serius untuk diwaspadai (Poli dan Parola, 1997). Di tingkat daerah kecil pun, dalam hal ini Kabupaten Jember, Provinsi Jawa Timur, kejadian infeksi virus hepatitis menunjukkan jumlah yang cukup tinggi yang terjadi secara periodik (Dinkeskab, 2005). Berdasarkan penelitian Sofia, Nurdjanah, dan Ratnasari (2009), prevalensi penyakit perlemakan hati di Indonesia sebesar 30,6%.

Tanaman telah memainkan peran penting dalam menjaga kesehatan manusia dan meningkatkan kualitas hidup. Menurut *World Health Organization* (WHO), sekitar tiga perempat dari populasi dunia bergantung pada obat tradisional dan sebagian besar dari perawatan ini melibatkan penggunaan ekstrak tanaman atau komponen aktifnya. Namun penggunaan komponen tersebut umumnya didasarkan pada penggunaan empiris sehingga masih terbatasnya data klinis yang menjamin keamanan dan keuntungannya (Elvin dan Lewis, 2001).

Salah satu tanaman yang menarik diteliti sebagai hepatoprotektor adalah alpukat (*Persea americana* Mill.), banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis (Lu, Arteaga, Zhang, Huerta, Go, dan Heber, 2005). Daging buah *P. americana* mengandung hingga 33% minyak kaya akan asam lemak tak jenuh tunggal yang diyakini memodifikasi kandungan asam lemak dalam membran organ vital, terutama jantung (Ortiz, Dorantes, Gallindez, dan Cardenas, 2004). Kandungan karotenoid *P. americana* telah dilaporkan memainkan peran penting dalam mengurangi resiko kanker (Lu dkk., 2005). Ekstrak daun *P. americana* memiliki aktivitas analgesik dan anti-inflamasi (Adeyemi, Okpo, dan Ogunti, 2002), serta penyembuhan luka (Nayak, Raju, dan Chalapathi, 2008). Pada biji *P. americana* ditemukan aktivitas antioksidan, yaitu fenolik lebih dari 70% (Soong dan Barlow, 2004). Selain itu, biji *P. americana* juga telah terbukti sebagai antidiabetes (Alhassan, Sule, Atiku, Wudil, Abubakar, dan Mohammed, 2012) dan antihipertensi (Ogochukwu, Raymond, dan Stephen, 2009).

Karbon tetraklorida ( $\text{CCl}_4$ ) merupakan salah satu senyawa model hepatotoksin kuat yang dapat digunakan untuk menimbulkan nekrosis dan

steatosis (Mandal, Maity, Das, Pal, dan Saha, 1999).  $\text{CCl}_4$  menghasilkan senyawa radikal bebas dan tertimbun secara besar-besaran di dalam lemak tubuh, hati, dan sumsum tulang belakang (Gregus dan Klaaseen, 2001). Enzim sitrokrom P-450 mengaktivasi  $\text{CCl}_4$  menjadi radikal triklorometil peroksi ( $\text{CCL}_3\text{O}_2$ ) yang dapat menyebabkan autooksidasi asam lemak dan menyebabkan nekrosis (Ziemmerman, 1999). Kelainan pada hati dapat dilihat dari meningkatnya aktivitas transaminase serum yaitu alanin transaminase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), bilirubin, GGT ( -Glutamyl transpeptidase), alkalin fosfatase dan protein (Ganong dan McPhee, 2011; North-Lewis, 2008).

Berdasarkan pemaparan diatas, penelitian ini bertujuan mengetahui efek hepatoprotektif pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida. Berdasarkan penelitian Soong dan Barlow (2004), yang melaporkan adanya aktivitas antioksidan maka diharapkan biji *P. americana* mampu mengurangi radikal bebas yang terbentuk dari induksi karbon tetraklorida.

Pada penelitian ini menggunakan bentuk sediaan ekstrak. Hal ini berdasarkan penelitian Javier, David, María, Petri, dan Mario (2011), menyatakan bahwa senyawa fenolik biji *P. americana* merupakan hasil isolasi dengan pelarut organik yang bersifat polar. Pada penelitian tersebut, membandingkan jumlah senyawa antioksidan yaitu fenolik biji *P. americana* yang diisolasi dengan tiga pelarut yaitu aseton, etil asetat, dan metanol. Selain itu, berdasarkan penelitian Agnieszka, Magdalena, Isabel, Teresa, Begon, dan Gary (2012), potensi aktivitas antioksidan yang kuat diperoleh dari ekstrak metanol (80%) biji *P. americana*.

Pada penelitian ini menggunakan pelarut yang berbeda dalam proses ekstraksi yaitu etanol. Etanol dan metanol merupakan pelarut yang termasuk golongan alkohol yang pada umumnya bersifat polar. Namun kedua pelarut tersebut memiliki tingkat kepolaran yang berbeda, di mana metanol lebih polar dibandingkan dengan etanol karena memiliki jumlah atom C lebih sedikit. Sehingga senyawa terlarut yang diikat oleh etanol lebih bersifat nonpolar dibandingkan senyawa yang terikat metanol (Purwanti, 2009) . Oleh karena itu, menggunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, yaitu etanol diharapkan mampu memperoleh senyawa fenolik dari biji *P. americana*. Eksplorasi tanaman *P. americana* masih belum banyak dilakukan di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut menjadi dasar yang kuat untuk dilakukannya penelitian tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* terhadap aktivitas serum ALT dan AST pada tikus terinduksi karbon tetraklorida.

### 1. Perumusan masalah

- a. Apakah pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* memiliki pengaruh hepatoprotektif terhadap penurunan aktivitas ALT dan AST plasma pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida?
- b. Berapa persen proteksi dari efek hepatoprotektif pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida?



## 2. Keaslian penelitian

Penelitian menggunakan biji *P. americana* pernah dilakukan oleh Ogochukwu, dkk (2009) tentang efek pemberian infusa biji *P. americana* (Lauraceae) terhadap tekanan darah tikus Sprague Dawley. Pada penelitian ini, menyebutkan hasil infusa biji *P. americana* mampu menurunkan tekanan darah dan denyut jantung hingga batas normal. Terkait penggunaan sediaan infusa biji *P. americana* dilakukan juga penelitian untuk mengetahui efek antidiabetes oleh induksi aloxan (Alhassan, dkk., 2012)

Penelitian yang dilakukan Javier, dkk (2011) menyatakan bahwa hasil isolasi ekstrak etil asetat, aseton dan metanol dari biji *P. americana* merupakan komponen senyawa fenolik, yaitu *catechins*, *hydroxybenzoic acids* (OH-B), *hydroxycinnamic acids* (OH-C), *flavonols*, dan *procyanidins*. Sepanjang pengamatan penulis, penelitian tentang efek hepatoprotektif pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji alpukat (*P. americana*) terhadap aktivitas ALT dan AST serum tikus galur Wistar terinduksi CCl<sub>4</sub> belum pernah dilakukan.

## 3. Manfaat penelitian

a. Manfaat teoritis. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan sumbangsih yaitu berupa ilmu kesehatan.

b. Manfaat praktis. Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi kepada masyarakat luas mengenai dosis penggunaan biji *P. americana* sebagai alternatif baru pengobatan penyakit hati.

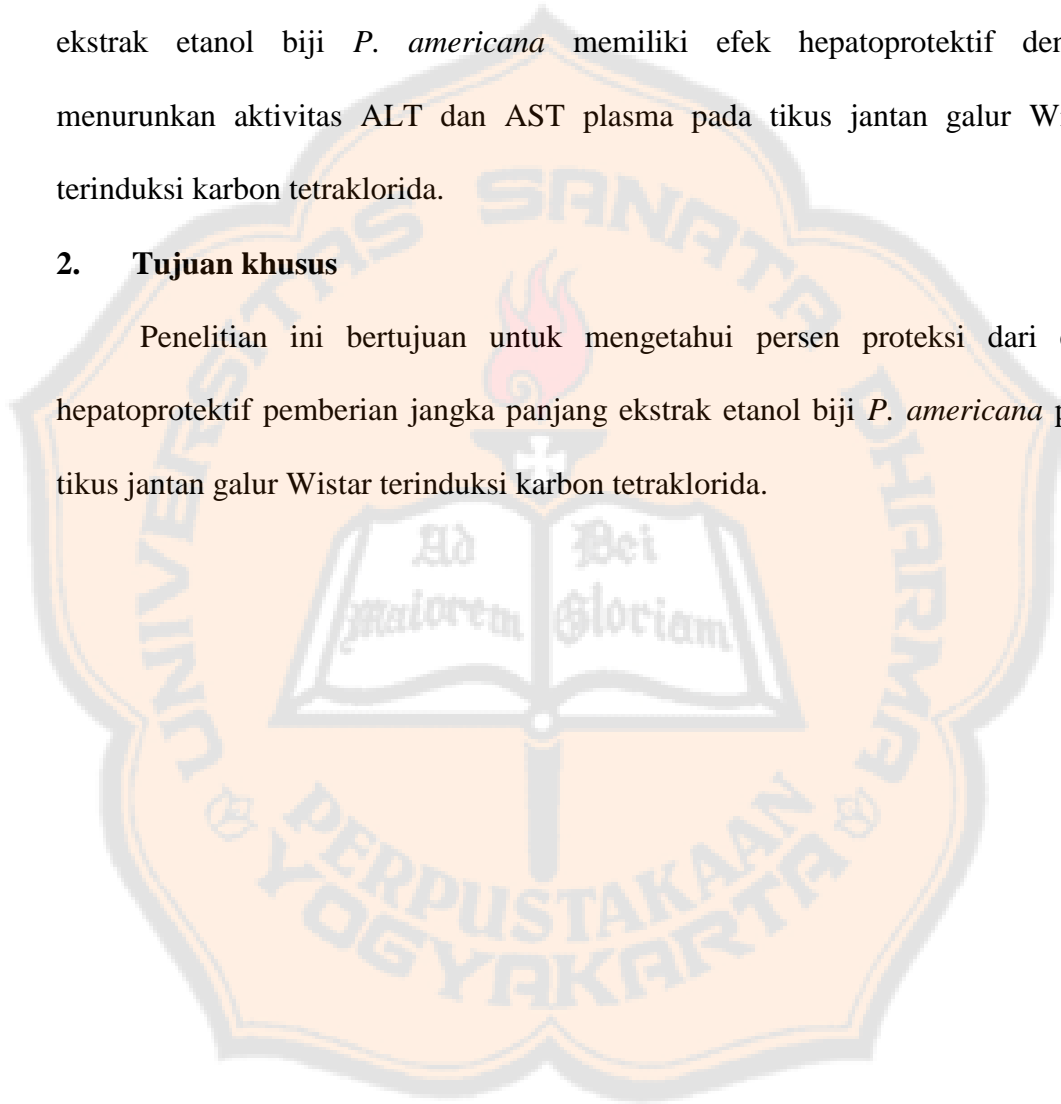
## **B. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan umum**

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* memiliki efek hepatoprotektif dengan menurunkan aktivitas ALT dan AST plasma pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.

### **2. Tujuan khusus**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui persen proteksi dari efek hepatoprotektif pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.



## BAB II

### PENELAAHAN PUSTAKA

#### A. Biji *P. americana*

##### 1. Taksonomi

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Laurales
Famili	: Lauraceae
Genus	: Persea
Spesies	: <i>Persea americana</i> Mill.

(Plantamor, 2008)

##### 2. Sinonim

*Laurus persea* L, *Persea drymifolia* Schlecht. and cham, *Persea gratissima* C.F. Gaertn. *Persea edulis* Raf., *Persea nubigenan* (Lim, 2012).

##### 3. Nama Lain

Amerika	: <i>avocado</i>
Inggris	: <i>alligator pear, avocado, avocado-pear, butter fruit</i>
Filipina	: <i>avocado</i>

Prancis	: <i>avocat, avocatier, zabelbok, zaboka</i>
Jerman	: <i>Alligatorbirne, Avocadobirne</i>
Indonesia	: <i>adpukat, avokad</i>
Malaysia	: <i>apukado, avokado, buah mentega</i>
Spanyol	: <i>aguacate, pagua</i>
Thailand	: <i>awokado</i>

(World Agroforestry Centre, 2002).

#### 4. Morfologi

*P. americana* merupakan pohon sedang sampai besar yang tingginya mencapai 20 m. Daun tunggal, tersusun spiral, tepi daun rata. Panjang tangkai daun 1.5-5 cm. Daun berbentuk elips hingga lanset, bulat telur hingga bulat telur sungsang, panjang daun 5-40 cm dan lebar 3-15 cm, permukaan atas daun diselaputi lilin. Perbungaan berupa tongkol majemuk (malai) yang muncul di ujung cabang. Bunga banci tersusun atas 3 daun mahkota, memiliki bau harum. Perhiasan bunga tersusun atas dua lingkaran, benang sari 9 di dalam 3 lingkaran, kumpulan benang sari di bagian dalam mengeluarkan 2 nektar di bagian dasarnya. Putik terdiri atas satu ruang bakal buah, tangkai kepala putik ramping dengan kepala putik tunggal. Buah besar berdaging dan berair, berbiji tunggal, permukaan buah halus, panjang 7-20 cm. Buah besar dan bulat, dilapisi dua lapisan dan dua kotiledon besar yang melindungi embrio kecil (Proseanet, 2012).

#### 5. Kandungan kimia

Sejumlah kandungan fitokimia yang penting ditemukan pada setiap bagian tanaman *P. americana* yaitu saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, dan fenol.

Menurut penelitian yang dilakukan Javier, dkk (2011) menyatakan bahwa hasil isolasi ekstrak etil asetat, aseton dan metanol dari biji *P. americana* merupakan komponen senyawa fenolik yaitu *catechins*, *hydroxybenzoic acids* (OH-B), *hydroxycinnamic acids* (OH-C), *flavonols*, dan *procyanidins*. Fenol yang terdeteksi mengindikasikan sebagai antiinflamasi, anti koagulan, antioksidan, serta peningkat sistem imun (Arukwe, dkk., 2012). Aktivitas dari antioksidan dan fenolik pada biji *P. americana* lebih dari 70% (Soong dan Barlow, 2004).

## 6. Khasiat dan kegunaan

Berdasarkan penelitian Kolawole, Kolawole, Ayankunle, dan Olaniran (2012), ekstrak metanol daun *P. americana* dapat digunakan sebagai anti kolesterol (hiperlipidemia) dengan menurunkan kadar LDL sekaligus meningkatkan kadar HDL hingga 80%. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Shirley, Hesty, dan Wahyu (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun *P. americana* mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan kumarin.

Salah satu senyawa yang terkandung pada daun *P. americana*, yaitu flavonoid yang merupakan antioksidan kuat larut air berfungsi menangkap radikal bebas, mencegah kerusakan oksidatif sel, memiliki aktifitas perlindungan dan anti kanker yang kuat melawan tahap-tahap dalam karsinogenesis (Salah, Miller, Pangauga, Tijburg, Bolwell, dan Rice, 1995). Terdapat juga kandungan fitokimia pada bagian tanaman *P. americana*, yaitu tanin dan alkaloid. Senyawa tanin berfungsi sebagai adstringen, memiliki rasa pahit, dan dapat mempercepat penyembuhan luka dan inflamasi pada membran mukosa (Okwu dan Okwu, 2004). Alkaloid merupakan salah satu metabolit biji *P. americana*, di mana isolat

murni dan derivat sintetiknya memiliki manfaat sebagai bakterisid dan analgesik (Stray, 1988).

Penelitian Ogochukwu, dkk (2009), melaporkan bahwa infusa biji *P. americana* memiliki efek antihipertensi dan juga pada penelitian Alhassan, dkk., (2012) menyatakan infusa biji *P. americana* memiliki efek antidiabetes pada tikus yang diinduksi aloksan. Selain itu, salah satu lembaga pengobatan di Nigeria menggunakan infusa batang tanaman *P. americana* untuk pengobatan penyakit kulit yang disebabkan oleh parasit (Owolabi, Jaja, dan Coker, 2005).

## **B. Hati**

### **1. Anatomi dan fisiologi hati**

Hati merupakan kelenjar terbesar di dalam tubuh manusia, terletak dibagian teratas dalam rongga abdomen sebelah kanan di bawah diafragma (Evelyn, 2009). Hati pada orang dewasa memiliki berat sekitar 1400 g dan dibungkus oleh suatu simpai fibrosa serta hati menerima hampir 25% curah jantung atau sekitar 1500 ml darah per menit melalui dua sumber, yaitu *vena porta* dan *arteri hepatica* (Robbins & Cotran, 2005).

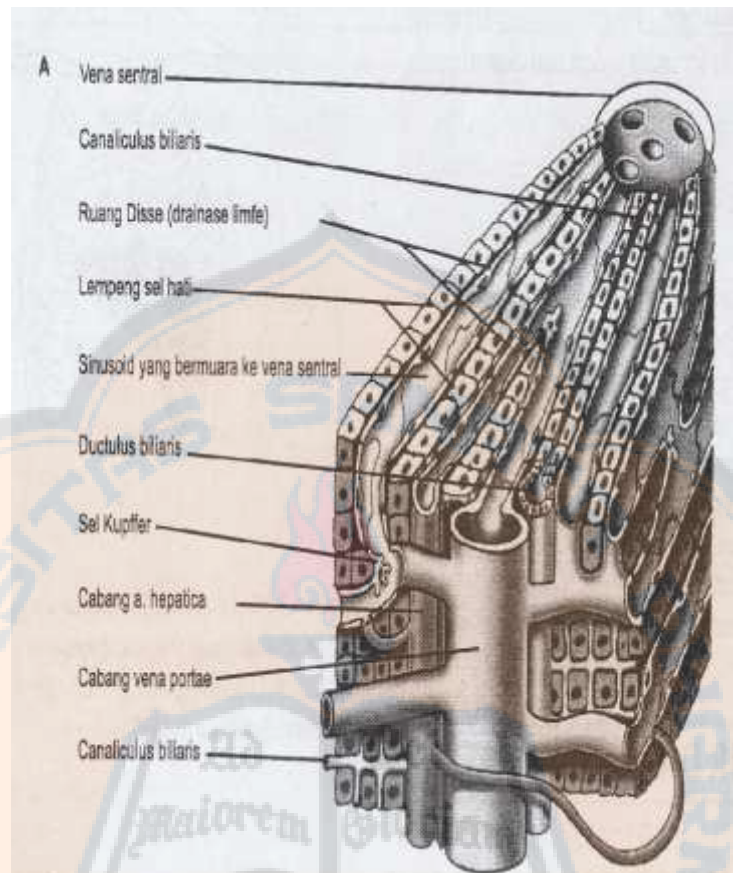
Hati menerima darah dari *vena portae hepatis* (60% sampai 70%) dan *arteri hepatica* (30% sampai 40%) (Robbins & Cotran, 2005). *Arteri hepatica* membawa darah yang berasal *arteria hepatica communis*, di sebelah kiri *ductus choledocus* dan di depan *vena porta*, darah tersebut mengandung oksigen (Wibowo dan Paryana, 2009). *Vena portae* membawa darah vena dari usus halus yang kaya akan nutrien yang baru diserap, obat, dan racun langsung ke hati. *Vena*



*portae* membentuk jalinan khusus yang memungkinkan setiap hepatosit dibasuh langsung oleh darah porta (Ganong dan McPhee, 2011).

Hati mempunyai dua *facies*, yaitu *facies diaphragmatica* dan *facies visceralis*. *Facies diaphragmatica* terletak di sebelah atas dengan bentuk sesuai lengkung diafragma dan mempunyai permukaan yang halus. Permukaan ini terdiri dari bagian anterior dan posterior, sedangkan *facies visceralis* atau posteroinferior menghadap ke bawah dan ke belakang sehingga permukaannya ireguler. Pada *facies visceralis* terdapat *porta hepatis*, yaitu suatu hilum dari hati yang merupakan tempat masuk dan keluar pembuluh darah, saluran empedu, pembuluh getah bening, dan *plexus nervorum* (Wibowo dan Paryana, 2009).

Hati memiliki dua lobus utama, yaitu kanan dan kiri. Lobus kanan dibagi oleh *fisura segmentalis* menjadi superior dan posterior, sedangkan lobus kiri dibagi oleh *ligamentum falsiformis* menjadi segmen medial dan lateral. Setiap lobus pada hati terbagi menjadi struktur-struktur yang disebut lobulus. Lobulus terdiri dari lempeng-lempeng sel hati yang berbentuk kubus dan tersusun mengelilingi vena sentralis. Di antara lempeng-lempeng sel hati terdapat kapiler-kapiler yang disebut sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan *arteri hepatica*. Sinusoid dibatasi oleh sel Kupffer atau sel fagositik (Gambar 1). Sel Kupffer merupakan sistem monosit makrofag yang memiliki fungsi utama, yaitu untuk menelan bakteri dan benda asing lain dalam darah. Sejumlah 50% makrofag dalam hati adalah sel Kupffer, sehingga hati merupakan salah satu organ penting dalam pertahanan melawan infeksi bakteri dan agen toksik (Price dan Wilson, 2005).



**Gambar 1: Struktur mikroskopik hati (Ganong dan McPhee, 2011)**

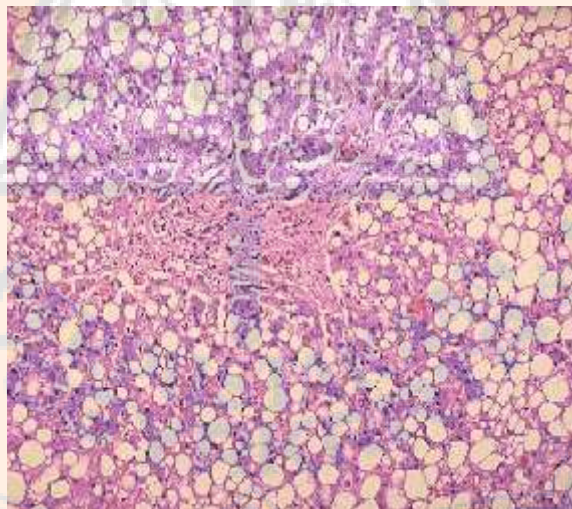
Fungsi utama hati sebagai pusat metabolisme tubuh, yakni hati berperan penting dalam metabolisme lemak; penimbun vitamin, besi, dan tembaga; detoksifikasi sejumlah zat endogen (indol, skatol, dan fenol yang dihasilkan oleh kerja bakteri pada asam amino dalam usus besar) dan zat eksogen (morfin, fenobarbital); serta makronutrien yang dihantarkan oleh *vena portae hepatis* pasca absorpsi dari usus. Sel-sel hati mendapat suplai darah dari *vena portae hepatis* yang kaya makanan, tidak mengandung oksigen, dan kadang-kadang toksik. Karena memiliki sistem peredaran darah yang tidak biasa ini, sel hati mendapat darah yang relatif kurang oksigen. Hal inilah yang menyebabkan sel hati lebih rentan terhadap kerusakan dan penyakit (Wibowo dan Paryana, 2009).

## 2. Kerusakan hati

Toksikan dapat mengakibatkan berbagai jenis kerusakan hati seperti :

### a. Perlemakan hati (*Steatosis*)

Perlemakan hati merupakan suatu keadaan dimana bila penimbunan lemak melebihi 5% dari berat hati atau mengenai lebih dari separuh jaringan sel hati. Perlemakan hati sering berpotensi menjadi penyebab kerusakan hati dan sirosis hati. *Steatosis* (Gambar 2) merupakan respon untuk sebagian besar dari pemejanaan akut, tetapi tidak untuk semua hepatotoksin. Biasanya toksin yang menginduksi steatosis adalah reversibel dan tidak menyebabkan kematian hepatosit (Gregus dan Klaaseen, 2001).



**Gambar 2 : Struktur mikroskopik hati yang mengalami steatosis**  
(*Mercer University School of Medicine, 2012*)

Steatosis sebagai akibat dari terakumulasinya butir lemak trigliserida di dalam hepatosit (Robbins & Cotran, 2005). Selain itu, perlemakan hati dapat berasal dari satu atau lebih peristiwa sebagai berikut: kelebihan pasokan asam lemak bebas ke hati, gangguan pada siklus trigliserida, peningkatan sintesis atau

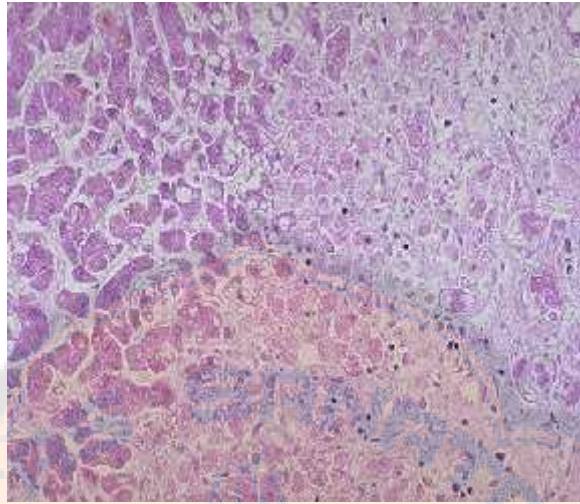
esterifikasi asam lemak, penurunan oksidasi asam lemak, dan penurunan sintesis atau sekresi lipoprotein densitas sangat rendah (Gregus dan Klaaseen, 2001).

Lesi dapat bersifat akut yang disebabkan oleh etionin, fosfor, atau tetrasiklin. Beberapa toksikan seperti tetrasiklin menyebabkan banyak butiran lemak kecil dalam suatu sel, toksikan lain seperti etanol, menyebabkan butiran lemak besar yang menggantikan inti. Sementara toksikan lain seperti karbon tetraklorida dapat menyebabkan penimbunan lipid hati dengan mekanisme penekanan konjugasi trigliserida dengan lipoprotein (Lu, 1995).

Toksikan yang menyebabkan penimbunan lipid dalam hati dengan mekanisme yang paling umum adalah karbon tetraklorida, yaitu adanya kerusakan pelepasan trigliserida hati ke plasma. Toksikan ini bekerja melalui metabolit reaktifnya, radikal triklorometil yang secara kovalen mengikat protein dan lipid tidak jenuh dan menyebabkan peroksidasi lipid (Lu, 1995).

b. Kematian sel (*Necrosis*)

Nekrosis adalah kematian sel hati sebagai akibat adanya kerusakan sel akut secara tidak terkontrol yang ditandai dengan pembengkakan sel, kebocoran, hancurnya inti serta masuknya sel-sel radang (Sudiana, 2008). Secara kimiawi kebocoran plasma membran pada nekrosis (Gambar 3) hepatitis dapat dideteksi secara kimiawi dengan menguji kadar enzim lizozim yang berasal dari sitosol di plasma atau serum. Tingkat aktivitas, yaitu ALT dapat menjadi keterangan informatif (Treinen dan Moslen, 2001). Pada peradangan parah, nekrosis hepatosit dapat mengenai seluruh lobulus atau sebagian besar hati dan biasanya menyebabkan gagal hati (Robbins & Cotran, 2005).



**Gambar 3 : Struktur mikroskopik hati yang mengalami nekrosis**  
(Mercer University School of Medicine, 2012)

c. Kolestasis

Kolestasis merupakan salah satu jenis kerusakan hati yang bersifat akut, dan lebih jarang ditemukan dibandingkan perlemakan hati dan nekrosis. Keadaan kolestasis terjadi karena berkurangnya aktivitas ekskresi empedu pada membran kanalikulus (Lu, 1995). Kolestasis ditandai dengan peningkatan asam empedu dalam plasma, khususnya garam empedu dan bilirubin (Robbins & Cotran, 2005). terganggunya ekskresi empedu dari pigmen bilirubin, pigmen akan terakumulasi di mata dan jaringan perifer terutama di kulit, menghasilkan penyakit kuning, dan tumpahan ke dalam urin, yang menjadi kuning coklat atau gelap terang (Gregus dan Klaaseen, 2001).

Toksin yang menginduksi kolestasis dapat bersifat sementara atau kronis, namun ketika dalam jumlah yang besar, hal ini dapat memicu pembengkakan sel, kematian sel, dan peradangan. Banyak jenis bahan kimia termasuk logam, hormon dan obat-obatan menjadi penyebab kolestasis (Gregus dan Klaaseen, 2001). Histologis kolestasis kemungkinan sangat halus sehingga sulit untuk dideteksi



tanpa penelitian ultrastruktur. Perubahan struktural mencakup pelebaran dari kanalikulus empedu serta adanya colokan empedu dalam saluran empedu dan kanalikuli (Lu, 1995).

d. Sirosis

Sirosis merupakan bentuk tahap kerusakan hati kronis dan bersifat fatal (Gregus dan Klaaseen, 2001). Sirosis ditandai dengan penghancuran hepatosit dan terbentuknya jaringan parut fibrosa padat, khususnya serabut-serabut kolagen yang menggantikan sel normal atau sel hepatik yang telah hancur. Hal itu sebagai respon terhadap kerusakan atau peradangan berulang sehingga hati kehilangan fungsi dan distorsi strukturnya (Mary, Mary dan Yakobus, 2005). Sirosis bersifat irreversibel, memiliki harapan hidup kecil, biasanya merupakan hasil paparan berulang zat kimia beracun contohnya alkohol (Treinen dan Moslen, 2001).

**C. Alanin Transaminase (ALT) - Aspartate Aminotransferase (AST)**

Kerusakan hepatoseluler dapat dideteksi dengan mengukur indeks fungsional dan mengamati produk hepatosit yang rusak atau nekrotik. Uji enzim sering menjadi satu-satunya petunjuk adanya cedera sel pada penyakit hati dini karena perubahan ringan kapasitas ekskretorik yang mungkin tersamar sebagai akibat kompensasi dari bagian hati lain yang masih fungsional (Sacher dan McPherson, 2002).

Enzim aminotransferase atau transaminase merupakan enzim pada serum yang dapat menjadi indikator untuk kerusakan hati, perubahan fungsi hati atau adanya toksisitas pada hati (Edem dan Akpanabiatu, 2006). Aminotransferase

mengkatalisis pemindahan reversibel satu gugus amino antara asam amino dan sebuah asam alfa-keto, yang berfungsi dalam pembentukan asam-asam amino yang dibutuhkan untuk penyusunan protein di hati serta dalam menyalurkan asam-asam amino ke jalur-jalur biokimiawi lainnya (Sacher dan McPherson, 2002).

Alanin transaminase (ALT) dan Aspartate Aminotransferase (AST) merupakan enzim sitosol dan terlibat dalam glukoneogenesis. ALT berfungsi memindahkan satu gugus amino antara alanin dan asam alfa-ketoglutamat. Peningkatan kadar ALT dalam darah terutama disebabkan oleh kerusakan sel hati dan sel otot rangka. Kerusakan hepatosit diawali dengan perubahan permeabilitas membran yang diikuti dengan kematian sel. AST berfungsi memerantai reaksi antara asam aspartat dan asam alfa-ketoglutamat. Peningkatan AST dalam darah disebabkan oleh kerusakan hati yang parah dan disertai nekrosis, sehingga enzim dari mitokondria (AST) juga ikut keluar sel. Waktu paruh enzim ALT lebih lama dibanding AST (Stockham, 2002)

Sejumlah AST terdapat di hati, miokardium, otot rangka serta eritrosit dalam kadar sedang. Pada konsentrasi tinggi ALT terdapat di hati sedangkan pada konsentrasi sedang di ginjal, jantung serta otot rangka. Hal ini menyebabkan ALT memiliki spesifisitas lebih tinggi untuk kerusakan hati dibandingkan AST (Sacher dan McPherson, 2002).

Selain spesifik pada hati, pelepasan ALT dan AST ke aliran darah dapat naik disebabkan adanya pada eritrosit, otot skelet, atau sel mikardium. Tingginya kenaikan tidak berkorelasi dengan luasnya nekrosis hepatoseluler dan nilai prognostik kecil (Behrman, Kliegman & Arvin Nelson, 1996)

Angka hasil pemeriksaan aktivitas AST dibagi aktivitas ALT pada sampel serum disebut rasio de Ritis. Rasio ini digunakan untuk membedakan berbagai penyakit dengan AST maupun ALT-nya. ALT lebih cepat dibebaskan dari hepatosit ke dalam darah secara akut, sedangkan AST dibebaskan lebih besar pada gangguan kronis (Sacher dan McPherson, 2002).

#### **D. Hepatotoksin**

Secara umum senyawa atau obat-obatan yang merupakan penyebab terjadinya kerusakan hati diklasifikasikan menjadi dua, yaitu :

##### **1. Hepatotoksin teramalkan (tipe A)**

Merupakan senyawa atau obat yang dapat menimbulkan efek toksik terhadap sebagian besar orang yang menelan senyawa tersebut dalam jumlah yang cukup. Jenis hepatotoksin ini bergantung pada dosis pemberian. Beberapa obat-obat tipe ini adalah parasetamol, karbon tetraklorida, salisilat, tetrasiklin, dan metotrexat (Forrest, 2006).

##### **2. Hepatotoksin tak teramalkan (tipe B)**

Merupakan senyawa atau obat yang tidak bersifat toksik pada hati akan tetapi bila diberikan kepada orang tertentu dapat menimbulkan efek toksik. Jenis ini tidak bergantung pada dosis pemberian dan frekuensi terjadinya sangat jarang, hanya terjadi pada 1 : 1000 orang. Beberapa obat-obatan yang tipe ini adalah *isoniazid*, *halothane*, dan *chlorpromazine* (Forrest, 2006).

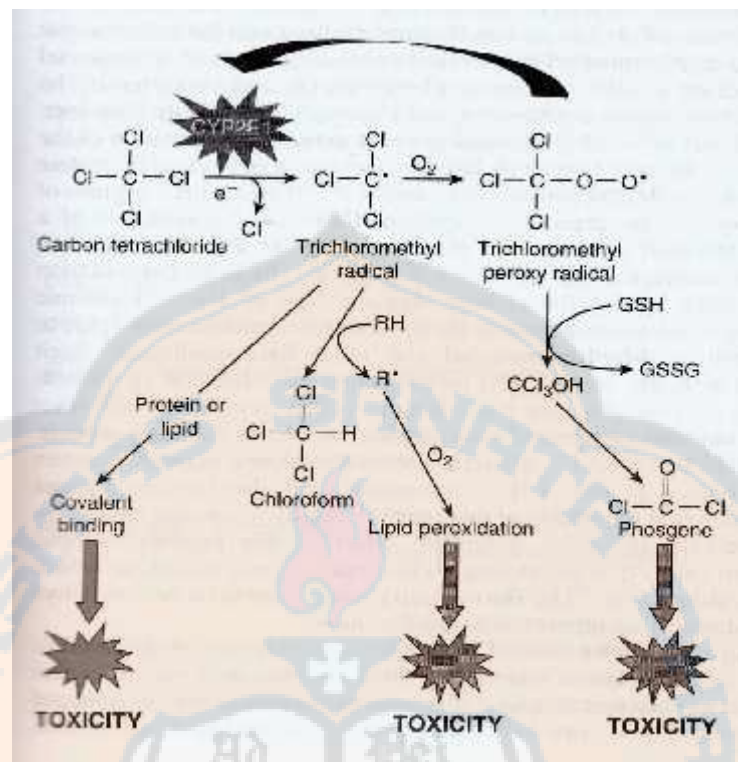


### E. Karbon Tetraklorida

Karbon tetraklorida merupakan suatu cairan jernih yang mudah menguap, tidak berwarna, dan dengan bau khas, BM 153,82 dan sangat sukar larut dalam air (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1995). Karbon tetraklorida adalah senyawa yang mudah larut dalam lemak dan merupakan model hepatotoksik yang dapat menimbulkan nekrosis sentrilobular hepatis dan perlemakan hati (Wahyuni, 2005). Hati menjadi target utama dari ketoksikan karbon tetraklorida karena ketoksikan senyawa ini tergantung pada metabolisme aktivasi oleh sitokrom P-450 (CYP2E1) (Timbrell, 2008).

Dekstruksi sitokrom P-450 sebagai akibat pemberian senyawa dosis rendah, terutama terjadi di sentrilobular dan daerah tengah hati. Senyawa ini selektif terhadap isoenzim tertentu, diketahui pada tikus senyawa selektif terhadap isoenzim CYP2E1, sehingga tidak berpengaruh terhadap isoenzim lain seperti CYP1A1. Destruksi CYP2E1 tergantung pada ketersediaan jumlah oksigen, yang mana ketika lebih banyak oksigen tersedia maka destruksi menjadi lebih besar (Timbrell, 2008).

Toksisitas yang ditimbulkan senyawa karbon tetraklorida ini bersifat toksik sebagai akibat adanya reaksi reduksi dehalogenasi membentuk radikal anion (bebas) yang menghilangkan klorin kemudian terbentuknya radikal triklorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ) dan klorida (Halliwell dan Gutteridge, 1984). Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen kemudian membentuk radikal triklorometil peroksi ( $\bullet\text{OCCl}_3$ ) (Gambar 4) yang lebih reaktif (Rechnagel, Glende, Dolak, dan Waller, 1989)



**Gambar 4 : Mekanisme biotransformasi dan oksidasi karbon tetraklorida (Timbrell, 2008)**

Radikal bebas juga akan menyebabkan peroksidasi lipid yaitu senyawa menginisiasi terjadinya radikal lipid sehingga menyebabkan terbentuknya lipid hidroperoksida (LOOH) dan radikal lipid alkoksil (LO•). Radikal lipid alkoksi tersebut diubah menjadi malondialdehid melalui proses fragmentasi (Gregus dan Klaaseen, 2001). Senyawa aldehyd inilah merupakan faktor penyebab kerusakan pada membran plasma dan meningkatkan permeabilitas membran (Bruckner dan Warren, 2001). Selain itu, juga mengakibatkan kerusakan pada organela lain yang akan menyebabkan nekrosis (kerusakan hati) (Ziemmerman, 1999).

Proses peroksidasi lipid juga menghasilkan produk yang dapat menyebabkan kerusakan membran sel dan kerusakan mitokondria (Timbrell, 2008). Kerusakan ini berupa keluarnya berbagai isi sitoplasma seperti enzim ALT

karena adanya gangguan integritas. Enzim ALT tersebut keluar dari sel hati dan masuk ke dalam peredaran darah sehingga meningkatnya jumlah enzim ALT dalam darah (Wahyuni, 2005). Berdasarkan Ziemmerman (1999) yaitu terdapat perbedaan pada peningkatan serum enzim untuk setiap toksikan yang berbeda (Tabel 1). Pada penelitian Yadav, Kumar, Singh, Sharma, dan Sutar (2011) menunjukkan peningkatan tiga kali lipat nilai ALT pada tikus yang terinduksi karbon tetraklorida. Pada dasarnya tubuh mempunyai sistem pertahanan dalam mengatasi radikal bebas, salah satunya adalah glutathione-S-transferase (GST) sebagai antioksidan endogen yang nantinya akan menangkap radikal bebas di dalam tubuh (Timbrell, 2008).

**Tabel I.** Peningkatan relatif dari beberapa serum enzim pada cedera hati

Toksikan	Lesi		Derajat peningkatan kadar enzim serum		
	Nekrosis	Steatosis	AST <sup>2</sup>	ALT <sup>2</sup>	OCT. SDH
CCl <sub>4</sub>	+	+	4+	3+	4+
Tioacetamida	+	-	4+	3+	4+
Tetrasiklin	-	+	2	+	1+
Etionin	-	+	+	-	+
Fosfor	±	+	1-2+	1-2+	1-2+

(Ziemmerman, 1999)

## F. Metode Pengujian

Evaluasi terjadinya kerusakan hepatik dapat dilakukan dengan beberapa uji penting di laboratorium. Evaluasi tersebut dapat dikategorikan sebagai berikut:

### 1. Tes enzim serum

Mengevaluasi kerusakan hati dengan enzim serum didasarkan atas spesifikasi dan sensitivitas berbagai tipe kerusakan hati. Berbagai parameter dapat diukur dalam plasma. Penentuan AST dan ALT enzim adalah cara pengukuran

parameter umum dalam plasma untuk mendeteksi kerusakan hati, enzim yang dihasilkan beberapa kali lipat dalam 24 jam pertama setelah kerusakan (Timbrell, 2008). Ada beberapa enzim lain yang dapat digunakan sebagai penanda, yaitu Alkalinfosfatase dan gamma-glutamyltranspeptidase (-GT). Kenaikan aktivitas kedua enzim serum tersebut menunjukkan kerusakan kolestatik (Plaa dan Charbonneau, 2001).

## **2. Tes ekskretori hepatic**

Zat kimia yang terdapat di dalam sirkulasi sistemik dapat diekskresikan oleh hati dalam bentuk tidak berubah atau dirubah di dalam hepatosit. Bilirubin dan xenobiotika merupakan contoh senyawa yang digunakan untuk mendeteksi kerusakan hepatic (Plaa dan Charbonneau, 2001). Pada kerusakan hati, plasma bilirubin yang mengalami peningkatan dan albumin plasma yang mengalami penurunan juga dapat diukur (Timbrell, 2008).

## **3. Analisis histologik kerusakan hati**

Analisis potensi hepatotoksik zat kimia tidak lengkap apabila tidak dengan adanya deskripsi histologi kerusakan yang dihasilkan. Ciri-ciri kerusakan hati ditentukan dengan melakukan pengamatan mikroskopik cahaya (Plaa dan Charbonneau, 2001).

## **4. Perubahan kandungan kimia hati**

Tingkat kerusakan hati yang terjadi dapat dideteksi dan ditetapkan melalui perubahan struktural dan fungsional hepatic yang disebabkan oleh zat hepatotoksik. Perubahan efek farmakologis obat dapat digunakan untuk menentukan dan mendeteksi disfungsi hati (Plaa dan Charbonneau, 2001).

### G. Metode Ekstraksi

Metode maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komponen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari tidak mengandung benzoin, stiraks dan lilin (Sudarmaji, Haryono, dan Suhardi, 1989).

### H. Landasan Teori

Hati memiliki berat sekitar 1400 g dan menerima hampir 25% curah jantung (Robbins dan Cotran, 2005). Fungsi utama hati adalah sebagai pusat metabolisme dan detoksifikasi. Sel hati mendapat suplai darah dari *vena portae hepatis* yang tidak mengandung oksigen dan terkadang toksik sehingga sel hati lebih rentan terhadap kerusakan dan penyakit (Wibowo dan Paryana, 2009).

Salah satu bentuk kerusakan hati adalah perlemakan hati. Hal itu dapat terjadi karena induksi senyawa model hepatotoksik, yaitu karbon tetraklorida pada dosis rendah. Senyawa tersebut direduksi oleh enzim sitokrom P-450 menjadi radikal bebas triklorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ) dan triklorometilperoksida ( $\bullet\text{OCCl}_3$ ) yang lebih reaktif (Gregus dan Klaaseen, 2001). Radikal triklorometil secara kovalen mengikat lemak dan protein, serta akan bereaksi secara langsung dengan membran fosfolipid dan kolesterol. Selain itu, dapat menyebabkan peroksidasi lipid karena adanya radikal lipid yang mengaktifkan senyawa oksigen reaktif (Timbrell, 2008).

Oleh karena itu diperlukan senyawa antioksidan untuk mengurangi radikal bebas dari karbon tetraklorida. Tubuh mempunyai sistem pertahanan dalam mengatasi radikal bebas, salah satunya adalah glutathione-S-transferase (GST) (Timbrell, 2008). Namun dapat digunakan antioksidan dari luar, yaitu flavonoid yang diperoleh dari ekstraksi biji *P. americana* yang mampu menangkap radikal bebas karbon tetraklorida di dalam tubuh. Senyawa flavonoid merupakan turunan senyawa fenolik terbesar yang ada di alam dengan struktur dasar fenilbenzopiron (tokoferol) (Sastrohamidjojo, 1996). Berdasarkan penelitian Javier, dkk (2011) menyatakan bahwa senyawa antioksidan dan fenolik biji *P. americana* merupakan hasil isolasi dengan pelarut organik yang bersifat polar. Pelarut etanol merupakan pelarut organik bersifat polar yang mampu mengisolasi kandungan senyawa dari biji *P. americana*.

### **I. Hipotesis**

Pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* mempunyai efek hepatoprotektif dengan menurunkan aktivitas ALT dan AST serum pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.

### BAB III

#### METODE PENELITIAN

##### A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini termasuk jenis penelitian eksperimental murni dengan rancangan penelitian acak lengkap pola searah.

##### B. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

###### 1. Variabel utama

- a. Variabel bebas. Variabel bebas, yaitu dosis pemberian jangka panjang ekstrak biji *P. americana* dalam pelarut polar (etanol).
- b. Variabel tergantung. Variabel tergantung, yaitu penurunan aktivitas serum ALT dan AST akibat pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* terhadap tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.

###### 2. Variabel pengacau

- a. Variabel pengacau terkendali. Variabel pengacau terkendali, yaitu kondisi hewan uji, yaitu tikus galur Wistar, jenis kelamin jantan, berat badan 150-250 g, dan umur 2-3 bulan, pemberian ekstrak secara per oral dengan frekuensi satu kali sehari selama 6 hari dengan waktu pemberian yang sama, pemberian hepatotoksin secara intraperitoneal, dan bahan uji berupa biji *P. americana*.
- b. Variabel pengacau tak terkendali. Variabel pengacau tak terkendali dalam penelitian ini adalah kondisi patologis dari tikus jantan galur Wistar.

### 3. Definisi operasional

a. Ekstrak etanol biji *P. americana* Didefinisikan sebagai ekstrak kental dari serbuk kering biji *P. americana* yang dilarutkan dalam pelarut etanol 70% dan dimaserasi selama 5 hari dengan sesekali penggojogan. Kemudian disaring, dievaporasi dan diuapkan di atas *waterbath* selama 10 jam pada suhu 80°C hingga bobot tetap dengan susut pengeringan sebesar 0%.

b. Penurunan aktivitas serum ALT dan AST. Didefinisikan sebagai kemampuan ekstrak etanol biji *P. americana* pada dosis tertentu untuk menurunkan kadar serum ALT dan AST pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.

c. Pemberian jangka panjang. Didefinisikan sebagai pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* satu kali sehari selama enam hari berturut-turut.

### C. Bahan Penelitian

#### 1. Bahan utama

- a. Hewan uji penelitian ini yaitu tikus jantan galur Wistar dengan umur 2-3 bulan dan berat badan 150-250 g yang diperoleh dari Laboratorium Imono Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- b. Bahan uji yang digunakan adalah serbuk kering biji *P. americana* yang diperoleh dari Padang pada bulan Januari 2013.

#### 2. Bahan kimia

- a. Karbon tetraklorida (hepatotoksin) yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.



- b. Etanol (pelarut ekstrak) diperoleh dari toko bahan kimia Aldrich Yogyakarta.
- c. Blanko pengujian ALT dan AST menggunakan aqua bidestilata
- d. *Olive oil (Bertolli)*
- e. Kontrol serum ALT-AST Cobas® (PeciControl ClinChem Multi 2) Roche/Hitachi analyzer
- f. Reagen ALT

Reagen serum yang digunakan adalah reagen ALT dyasis. Komposisi dan konsentrasi dari reagen ALT adalah sebagai berikut.

**Tabel II :** Komposisi dan konsentrasi reagen serum ALT

R1 :	TRIS pH 7.15	140 mmol/L
	L-Alanine	700 mmol/L
	LDH ( <i>lactatedehydrogenase</i> )	2300 U/L
R2 :	2-Oxoglutarate	85 mmol/L
	NADH	1 mmol/L
Pyridoxal-5-phosphate FS :	Good's buffer pH 9.6	100 mmol/L

- g. Reagen AST

Reagen serum yang digunakan adalah reagen ALT dyasis. Komposisi dan konsentrasi dari reagen AST adalah sebagai berikut.

**Tabel III :** Komposisi dan konsentrasi reagen serum AST

R1 :	TRIS pH 7.65	110 mmol/L
	L-Aspartate	320 mmol/L
	MDH (malate dehydrogenase)	800 U/L
	LDH (lactate dehydrogenase)	1200 U/L
R2 :	2-Oxoglutarate	65 mmol/L
	NADH	1 mmol/L
Pyridoxal-5-phosphate FS :	Good's buffer pH 9.6	100 mmol/L
	Pyridoxal-5-phosphate	13 mmol/L

## D. Alat Penelitian

### 1. Alat ekstraksi

Alat gelas yaitu Bekker *glass*, Erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, cawan porselen, corong *Buchner*, pipet tetes, batang pengaduk (Pyrex Iwaki Glass®). Mesin penyerbuk Retsch®, ayakan No. 40 *Electric Sieve Shaker* Indotest Multi Lab®, timbangan analitik Mettler Toledo®, *moisture balance*, *orbital shaker* Optima®, *rotary vacuum evaporator* IKAVAC®, *oven* Memmert®.

### 2. Alat uji hepatoprotektif

Seperangkat alat gelas berupa Bekker *glass*, gelas ukur, tabung reaksi, labu ukur, pipet tetes, batang pengaduk (Pyrex Iwaki Glass®). Timbangan elektrik Mettler Toledo®, sentrifuge Centurion Scientific®, *vortex* Genie Wilten®, *sput* per oral dan syringe 3 cc Terumo®, *sput* ip. dan *syringe* 1 cc Terumo®, pipa kapiler, tabung *Eppendorf*, Microlab 200 Merck®.

## E. Tata Cara Penelitian

### 1. Determinasi biji *P. americana*

Determinasi biji *P. americana* dilakukan dengan kandungan serbuk biji *P. americana* yang diperoleh dari hasil pembuatan dengan serbuk biji *P. americana* yang diperoleh dari Padang. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa benar serbuk yang digunakan dalam penelitian adalah biji *P. americana*. Determinasi dilakukan dengan mencocokkan kesamaan ciri berupa kandungan senyawa kimia antara serbuk biji *P. americana* yang dibuat dengan serbuk biji *P.*

*americana* yang diperoleh dari Padang secara mikroskopis. Determinasi dilakukan oleh Bapak Yohanes Dwiatmaka, M.Si., Dosen Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

## **2. Pengumpulan bahan uji**

Bahan uji penelitian ini adalah serbuk biji *P. americana* yang diperoleh dari Padang, Januari 2013.

## **3. Pembuatan serbuk kering biji *P. americana***

Biji *P. americana* yang telah dipisahkan dari dagingnya, dikupas kulit arinya dan dicuci dibawah air mengalir. Setelah bersih diangin-anginkan kemudian dipotong hingga menjadi potongan-potongan kecil untuk memperluas permukaan yang bertujuan mempercepat proses pengeringan. Selanjutnya setelah dalam bentuk potongan kecil dilakukan pengeringan di bawah sinar matahari. Pengeringan dilanjutkan dengan oven pada suhu 50° C selama 24 jam, kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan no.40 agar luas permukaan serbuk yang kontak dengan pelarut semakin besar sehingga kandungan fitokimia yang terkandung dalam biji *P. americana* lebih mudah terekstrak.

## **4. Penetapan kadar air serbuk kering biji *P. americana***

Penetapan kadar air secara sederhana menggunakan alat *moisture balance*. Sebanyak 5 g serbuk biji *P. americana* dimasukkan ke dalam alat *moisture balance* dan diratakan. Serbuk ditimbang sebagai bobot sebelum pemanasan. Kemudian serbuk dipanaskan selama 15 menit pada suhu 105° C dan serbuk ditimbangan kembali sebagai bobot setelah pemanasan. Selisih bobot sebelum dan sesudah pemanasan merupakan kadar air dari sampel yang diteliti.

## 5. Pembuatan ekstrak biji *P. americana*

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi yaitu perendaman dengan melarutkan 40 g serbuk biji *P. americana* dalam 200 mL pelarut etanol 70 % dan dimaserasi selama 5 x 24 jam pada suhu kamar dengan sesekali penggojogan. Tujuan dilarutkannya dalam pelarut etanol supaya senyawa kimia yang terkandung dalam biji *P. americana* dapat larut dalam pelarut. Selanjutnya hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dari serbuk (residu) dengan menggunakan corong *Buchner* yang dilapisi kertas saring. Kemudian serbuk hasil penyaringan tersebut di remaserasi atau maserasi kembali dengan pelarut yang baru yaitu 200 mL pelarut etanol 70% selama 2 x 24 jam pada suhu kamar dan selanjutnya disaring. Kedua hasil ekstrak dicampurkan dan dievaporasi menggunakan labu alas bulat. Proses evaporasi bertujuan untuk menguapkan cairan penyari pada proses maserasi. Prinsip kerja alat *vaccum evaporator* adalah menguapkan pelarut dengan suhu rendah dan berputar serta menggunakan tekanan tinggi untuk membantu proses penguapan. Ekstrak kental yang diperoleh ditempatkan dalam cawan petri dan dilakukan penimbangan untuk mempermudah dalam perhitungan rendemen ekstrak yang akan diperoleh. Kemudian hasil maserasi diuapkan kembali di atas *waterbath* selama 10 jam dengan suhu 80°C hingga diperoleh bobot tetap kemudian disimpan di dalam desikator.

Dilakukan perhitungan rata-rata rendemen lima replikasi ekstrak etanol biji *P. americana* kental yang telah dibuat.

Rendemen ekstrak = berat cawan ekstrak kental – berat cawan kosong

$$\text{Rata - rata rendemen} = \frac{\text{rep. 1} + \text{rep. 2} + \text{rep. 3} + \text{rep. 4} + \text{rep. 5} + \text{rep. 6}}{6}$$

## 6. Penetapan konsentrasi pekat ekstrak

Digunakan konsentrasi pekat yang dapat dibuat dimana pada konsentrasi tersebut ekstrak yang dibuat dapat dimasukkan serta dikeluarkan dari spuit oral. Cara pembuatannya dengan melarutkan ekstrak sebanyak 3,5 g dalam labu ukur 50 ml dengan pelarut yang sesuai yaitu CMC Na 1%. Sehingga konsentrasi ekstrak dapat ditetapkan sebesar 7% b/v atau 0,07 g/ml atau 70 mg/ml.

## 7. Penetapan dosis ekstrak etanol biji *P. americana*

Penetapan peringkat dosis berdasarkan bobot tertinggi tikus, konsentrasi dan pemberian setengah volume cairan peroral yaitu 5 ml. Penetapan dosis tertinggi ekstrak etanol biji *P. americana* dengan konsentrasi 7% diperoleh sebagai berikut :

$$D \times BB = C \times V$$

$$D \times 0,250 \text{ kgBB} = 70 \text{ mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$D = 1400 \text{ mg/kgBB}$$

Dua dosis lainnya diperoleh dengan menurunkan 2 dan 4 kalinya sehingga didapatkan dosis 700 dan 350 mg/kgBB. Dosis yang digunakan dalam penelitian adalah 350; 700; dan 1400 mg/kgBB atau 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB.

## 8. Pembuatan larutan karbon tetraklorida konsentrasi 50%

Karbon tetraklorida dibuat dalam konsentrasi 50% dengan cara melarutkan 50 ml karbon tetraklorida ke dalam *olive oil* sebanyak 50 ml (Janakat dan Merrie,2002).

## 9. Pembuatan *suspending agent* CMC-Na 1%

*Suspending agent* CMC-Na 1% digunakan untuk membuat suspensi ekstrak etanol biji *P. americana* dengan mendispersikan lebih kurang sebanyak 1,0 g CMC-Na (ditimbang seksama) ke dalam air mendidih sampai volume 100,0 ml.

## 10. Uji pendahuluan

a. Penetapan dosis hepatotoksin karbon tetraklorida. Penetapan dosis karbon tetraklorida bertujuan untuk mengetahui pada dosis berapa karbon tetraklorida mampu menimbulkan kerusakan hati pada tikus yang ditunjukkan dengan adanya peningkatan aktivitas serum ALT yang tinggi. Berdasarkan Janakat dan Merie (2002), dosis karbon tetraklorida yang digunakan adalah 2 ml/kg BB yang terbukti mampu meningkatkan aktivitas serum ALT dan AST yang diberikan secara *intraperitoneal* (i.p). Pada penelitian yang dilakukan Garri (2013) juga membuktikan bahwa 2 ml/kg BB mampu meningkatkan aktivitas serum ALT dan AST yang pemberiannya melalui *intraperitoneal* (i.p).

b. Penetapan waktu pencuplikan darah. berdasarkan penelitian Janakat dan Merie (2002), membuktikan bahwa ALT dan AST mencapai aktivitas maksimal pada jam ke-24 setelah pemberian dan pada jam ke-48 berangsur-angsur menurun. Pada penelitian ini dilakukan orientasi dengan 3 cuplikan, yaitu jam 0, 24, dan 48 jam setelah pemejanaan karbon tetraklorida. Hal tersebut dilakukan untuk mengetahui bagaimana profil kenaikan ALT dan AST serum. Waktu pencuplikan darah diperoleh dengan dilakukannya orientasi menggunakan tiga kelompok perlakuan waktu dan setiap kelompok terdiri dari 3 ekor tikus. Pengambilan darah dilakukan melalui sinus orbitalis mata. Kelompok I-III

diambil darah masing-masing pada jam ke 0, 24, dan 48 setelah pemejanaan karbon tetraklorida. Kemudian diukur aktivitas serum ALT dan AST.

#### 11. Pengelompokkan dan perlakuan hewan uji

Tiga puluh lima ekor tikus dibagi 7 kelompok perlakuan secara acak, masing-masing sejumlah lima ekor tikus.

- a. Kelompok I (kontrol hepatotoksin) diberi larutan karbon tetraklorida : *olive oil* (1:1) dosis 2 ml/kgBB secara i.p.
- b. Kelompok II (kontrol ekstrak) diberi ekstrak biji *P. americana* Mill. dosis 1,40 g/kgBB selama enam hari berturut-turut secara per oral.
- c. Kelompok III (kontrol negatif) diberi *olive oil* dosis 2 ml/kgBB secara i.p.
- d. Kelompok IV (kontrol positif) diberi *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB selama enam hari berturut-turut secara per oral.
- e. Kelompok V (dosis rendah) diberi ekstrak etanol biji *P. americana* Mill. dosis 0,35 g/kgBB secara per oral sekali sehari selama enam hari berturut-turut.
- f. Kelompok VI (dosis tengah) diberi ekstrak etanol biji *P. americana* Mill. dosis 0,70 g/kgBB secara per oral sekali sehari selama enam hari berturut-turut.
- g. Kelompok VII (dosis tinggi) diberi ekstrak etanol biji *P. americana* Mill. dosis 1,40 g/kgBB secara per oral sekali sehari selama enam hari berturut-turut.

Pada hari ke tujuh kelompok IV-VII diberi larutan karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB secara intraperitoneal. Setelah 24 jam diambil darahnya melalui sinus orbitalis mata, diukur aktivitas serum ALT dan serum AST.

## **12. Pembuatan serum**

Darah diambil melalui sinus orbitalis mata tikus dan ditampung dalam tabung *Eppendorf*. Darah didiamkan selama  $\pm$  15 menit, kemudian disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 10.000 rpm dan bagian supernatannya diambil.

## **13. Penetapan aktivitas serum kontrol, serum ALT, dan serum AST**

Aktivitas serum ALT dan AST dianalisis menggunakan alat Mikrolab 200 Merck®. Pengukuran aktivitas serum ALT dan AST dilakukan di laboratorium Biokimia Fisiologi Manusia, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta.

a. Penetapan aktivitas serum kontrol. Bertujuan untuk mengetahui validitas dan reliabilitas alat yang digunakan. Analisis dilakukan dengan cara mencampur 1000  $\mu$ L reagen I, kemudian dicampurkan 100  $\mu$ L serum kontrol (rentang nilai serum kontrol ALT yaitu 26,2 – 41,8 U/I dan serum kontrol AST yaitu 35,4-56,6) U/I), didiamkan selama dua menit. Setelah itu, ditambahkan 250  $\mu$ L reagen II dan dibaca resapan setelah satu menit. Pengukuran kontrol serum digunakan untuk mengetahui validasi alat yang digunakan.

b. Penetapan aktivitas serum ALT dan AST. Analisis serum ALT dilakukan dengan cara mencampur 1000  $\mu$ L reagen I, kemudian dicampurkan 100  $\mu$ L serum, didiamkan selama dua menit. Setelah itu, ditambahkan 250  $\mu$ L reagen II dan dibaca resapan setelah satu menit. Untuk analisis serum AST dilakukan



dengan mencampur 1000  $\mu\text{L}$  reagen I, kemudian dicampurkan 100  $\mu\text{L}$  serum, didiamkan selama dua menit. Setelah itu, ditambahkan 250  $\mu\text{L}$  reagen II dan dibaca resapan setelah satu menit.

### F. Tata Cara Analisis Hasil

Data aktivitas serum ALT dan AST diuji dengan *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi data dan analisis varian untuk melihat homogenitas varian antar kelompoknya sebagai syarat analisis parametrik. Apabila diperoleh distribusi data normal dan homogen maka dilanjutkan dengan analisis variansi pola searah (*ANOVA one way*) untuk mengetahui perbedaan masing-masing kelompok dengan taraf kepercayaan 95%. Kemudian dilakukan uji *Scheffe* untuk melihat perbedaan antar kelompok bermakna (signifikan) ( $p < 0,05$ ) atau tidak bermakna (tidak signifikan) ( $p > 0,05$ ). Namun bila distribusi tidak normal dilakukan analisis dengan *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan aktivitas serum ALT dan AST antar kelompok. Kemudian dilakukan uji *Mann Whitney* untuk melihat perbedaan tiap kelompok.

Perhitungan persen proteksi terhadap hepatotoksin karbon tetraklorida diperoleh dengan rumus :

$$\frac{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol olive oil}) - (\text{Aktivitas ALT perlakuan} - \text{kontrol olive oil})}{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol olive oil})} \times 100\%$$

Perhitungan persen daya hepatoprotekti terhadap kontrol positif yaitu *Curliv*® diperoleh dengan rumus :

$$\frac{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol positif}) - (\text{Aktivitas ALT perlakuan} - \text{kontrol positif})}{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol positif})} \times 100\%$$

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian dan besar dosis efektif hepatoprotektif dari ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida, yaitu melihat aktivitas serum ALT dan AST. Tujuan tersebut dicapai dengan dilakukannya beberapa pengujian.

#### A. Penyiapan Bahan

##### 1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah benar *P. americana*. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Farmakognosi Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah biji yang sudah dalam bentuk serbuk. Determinasi dilakukan dengan cara mencocokkan kesamaan ciri (Lampiran 5) dari serbuk biji *P. americana* yang digunakan pada penelitian yang diperoleh dari Padang dengan serbuk biji *P. americana* yang dibuat oleh peneliti sebagai pembanding. Hasil determinasi membuktikan bahwa benar yang digunakan dalam penelitian merupakan biji dari tanaman *P. americana*.

##### 2. Penetapan kadar air serbuk biji *P. americana*

Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui kadar air dalam serbuk biji *P. americana* dan untuk memenuhi persyaratan serbuk yang baik, yaitu

memiliki kadar air kurang dari 10% (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1995). Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Gravimetri dengan menggunakan alat *moisture balance*. Serbuk dipanaskan pada suhu 105 °C selama 15 menit di dalam alat, kemudian dilakukan perhitungan terhadap kadar air. Digunakan suhu 105 °C selama 15 menit, agar mampu menguapkan kandungan air sehingga ekstrak etanol *P. americana* memenuhi persyaratan standarisasi non spesifik. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa serbuk biji *P. americana* memiliki kadar air 7,4%. Hal ini menyatakan bahwa serbuk biji *P. americana* memenuhi syarat serbuk yang baik.

### **3. Hasil penimbangan bobot ekstrak etanol biji *P. americana***

Pembuatan ekstrak etanol biji *P. americana*. menggunakan metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena digunakan untuk menyari simplisia dimana zat aktif yang terkandung di dalamnya mudah larut dalam cairan penyari. Selain itu dalam proses pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana. Cairan penyari yang digunakan adalah etanol karena senyawa hipotesis yang diketahui adalah senyawa golongan glikosida fenolik yang dapat larut dalam pelarut polar. Hal ini berdasarkan penelitian Javier, dkk (2011), menyatakan bahwa senyawa fenolik biji *P. americana* merupakan hasil isolasi dengan pelarut organik yang bersifat polar. Penelitian yang dilakukan oleh Shirley, dkk (2013) menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun *P. americana* mengandung senyawa flavonoid, saponin, dan kumarin. Selain itu, berdasarkan penelitian Agnieszka, dkk (2012) menyatakan potensi aktivitas antioksidan yang kuat diperoleh dari ekstrak metanol (80%) biji *P. americana*.

Parameter standarisasi ekstrak etanol biji *P. americana* dilihat dari bobot tetap yang bertujuan untuk menghitung sisa zat dengan bobot tetap setelah dilakukan pengeringan. Ekstrak dalam cawan ditimbang setiap dua jam selama 10 jam atau hingga bobot konstan. Hasil dari proses pengeringan didapatkan bahwa tidak ada perubahan bobot ekstrak etanol biji *P. americana* pada jam ke 8 dan 10 serta susut pengeringan sebesar 0 %, sehingga diketahui pelarut penyari ekstrak sudah tidak ada. Penelitian ini menggunakan waktu pengeringan 10 jam untuk mendapatkan bobot tetap ekstrak etanol biji *P. americana*. Hasil yang diperoleh menunjukkan sebanyak 320 g serbuk kering biji *P. americana* menghasilkan 13 cawan ekstrak kental. Diperoleh rata-rata rendemen dari masing-masing cawan 4,45 g ekstrak kental. Pada pembuatan 320 g serbuk kering *P. americana* menghasilkan 57,85 g ekstrak kental, dengan rendemen 18,08%.

## **B. Uji Pendahuluan**

### **1. Penentuan dosis hepatotoksin karbon tetraklorida**

Pada penelitian ini senyawa yang digunakan sebagai hepatotoksin adalah karbon tetraklorida. Penentuan dosis karbon tetraklorida tersebut bertujuan untuk mengetahui pada dosis berapa karbon tetraklorida dapat menyebabkan kerusakan hati pada tikus yang ditunjukkan dengan peningkatan aktivitas serum ALT dan serum AST. Berdasarkan penelitian Janakat dan Merie (2002) dan penelitian Garri (2013) dosis yang digunakan pada penelitian ini yaitu 2 ml/kgBB, yang mana pada dosis ini sudah mampu menimbulkan efek hepatotoksik. Adapun pada dosis

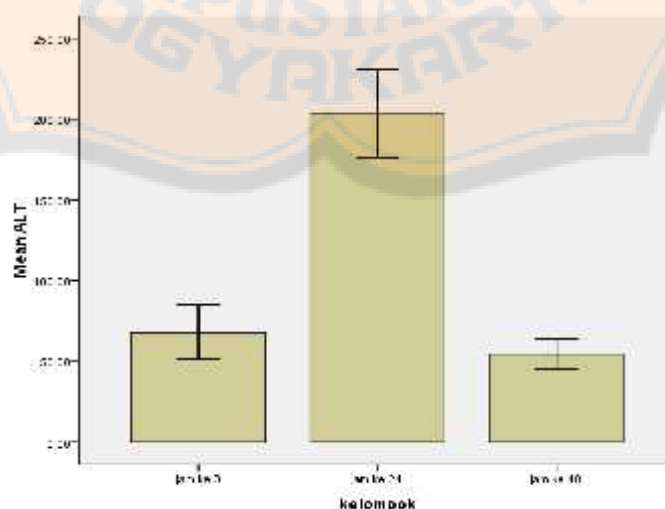
rendah karbon tetraklorida hanya menyebabkan kerusakan ringan berupa perlemakan hati (Timbrell, 2008).

## 2. Penentuan waktu pencuplikan darah hewan uji

Penentuan waktu pencuplikan darah pada hewan uji bertujuan untuk mengetahui kehepatotoksikan karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB mencapai maksimal, yang ditunjukkan dengan peningkatan ALT dan AST tertinggi pada waktu tertentu. Pencuplikan darah dilakukan melalui *sinus orbitalis* mata dengan selang waktu tertentu yaitu jam ke 0, 24, dan 48 setelah karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB diberikan kepada tikus jantan. Hasil uji berupa aktivitas ALT setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB yang tersaji pada Tabel IV dan Gambar 5 serta aktivitas AST yang tersaji pada Tabel VI dan Gambar 6.

**Tabel IV.** Purata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam (n = 3)

Selang waktu (jam)	Purata aktivitas serum ALT $\pm$ SE (U/I)
0	68,0 $\pm$ 9,6
24	203,3 $\pm$ 15,8
48	54,6 $\pm$ 5,4



**Gambar 5.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam

Berdasarkan data serum ALT yang telah dianalisis dengan menggunakan analisis variansi satu arah menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $<0,05$ ). Hal itu menyatakan bahwa antara ketiga kelompok terdapat perbedaan. Kemudian dilakukan analisis menggunakan uji *Scheffe* untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antar kelompok. Hasil analisis yang diperoleh dari uji *Scheffe* dapat dilihat pada tabel V.

**Tabel V.** Hasil uji *Scheffe* aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam

Selang waktu (jam)	0	24	48
0	-	BB	TB
24	BB	-	BB
48	TB	BB	-

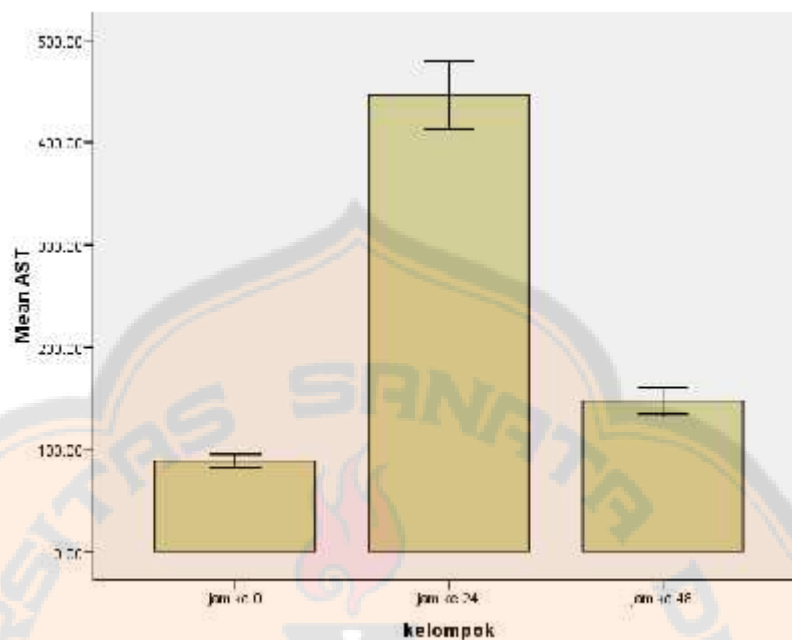
Keterangan :

BB = Berbeda bermakna ( $p \leq 0,05$ ) TB = Berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

Berdasarkan data pada tabel IV, terlihat aktivitas ALT yang paling tinggi yaitu pada jam ke 24, yakni  $203,3 \pm 15,8$  U/l. Aktivitas ALT pada jam ke 24 memberikan peningkatan yang signifikan dan berbeda bermakna dibandingkan jam ke 0 dan 48 (Tabel V). Aktivitas serum ALT mengalami penurunan pada jam ke 48 yakni  $54,6 \pm 5,4$  U/l, yang berbeda tidak bermakna dengan aktivitas ALT pada jam ke 0. Hal ini menunjukkan pada jam ke 24 setelah pemberian karbon tetraklorida terjadi peningkatan aktivitas ALT, sedangkan pada jam 48 aktivitas serum ALT sudah kembali normal.

**Tabel VI.** Purata aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam (  $n = 3$  )

Selang waktu (jam)	Purata aktivitas serum AST $\pm$ SE (U/I)
0	$88,3 \pm 3,7$
24	$446,3 \pm 19,3$
48	$147,3 \pm 7,5$



**Gambar 6.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam

Hasil analisis statistik untuk data aktivitas serum AST menggunakan analisis variansi satu arah, menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $<0,05$ ). Nilai tersebut menunjukkan bahwa antara ketiga kelompok terdapat perbedaan. Selanjutnya juga dilakukan analisis uji *Scheffe* untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antar kelompok. Hasil analisis dari uji *Scheffe* dapat dilihat pada tabel VII.

**Tabel VII.** Hasil uji *Scheffe* aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0, 24, dan 48 jam

Selang waktu (jam)	0	24	48
0	-	BB	BB
24	BB	-	BB
48	BB	BB	-

Keterangan :

B = Berbeda bermakna ( $p \leq 0,05$ ) TB = Berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

Berdasarkan data pada tabel VI menunjukkan hal yang sama dengan aktivitas serum ALT bahwa aktivitas serum AST paling tinggi pada jam ke 24, yakni  $446,3 \pm 19,3$  U/l. Nilai tersebut memberikan peningkatan ALT yang signifikan dan berbeda bermakna dibandingkan dengan jam ke 0 dan 48 (Tabel VII). Pada jam ke 48, aktivitas serum AST mengalami penurunan dan memberikan perbedaan yang signifikan terhadap jam ke 0 dan 24. Ini berarti penurunan aktivitas serum AST pada jam ke 48 belum mencapai nilai normal serum AST seperti pada jam ke 0. Berdasarkan hasil tersebut maka pada penelitian ini menggunakan waktu pencuplikan darah pada jam ke 24 setelah pemberian karbon tetraklorida.

### **3. Penetapan lama pemejanaan ekstrak etanol biji *P. americana***

Berdasarkan penelitian Kurniawati, dkk (2011), dalam penelitian efek hepatoprotektif ekstrak metanol-air *M. tanarius* terhadap tikus terinduksi parasetamol, menyatakan bahwa praperlakuan ekstrak metanol-air daun *M. tanarius* pada kelompok hewan uji diberikan selama enam hari dan pada hari ke 7 diberikan hepatotoksin. Penetapan lama pemejanaan ekstrak etanol biji *P. americana* pada penelitian ini berdasarkan penelitian Kurniawati, dkk (2011), yaitu pemberian praperlakuan dilakukan selama enam hari dan pada hari ke 7 diberi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB. Hal ini karena penelitian ini hampir menyerupai penelitian Kurniawati, dkk (2011) yang diharapkan dapat memperoleh efek hepatoprotektif dari ekstrak dan model hepatotoksin yang berbeda, yaitu ekstrak etanol biji *P. americana* dengan model hepatotoksin karbon tetraklorida.



#### 4. Penetapan dosis ekstrak etanol biji *P. americana*

Penetapan dosis ekstrak etanol biji *P. americana* bertujuan untuk menentukan tingkatan dosis dari ekstrak etanol biji *P. americana* yang akan digunakan dalam penelitian ini. Penentuan dosis ekstrak etanol biji *P. americana* didasarkan pada dosis maksimal ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus yang merupakan konsentrasi tertinggi ekstrak etanol biji *P. americana*. Konsentrasi tertinggi yang digunakan adalah konsentrasi pekat yang dapat dibuat dimana pada konsentrasi tersebut ekstrak dapat dimasukkan dan dikeluarkan dari *sput oral*. Konsentrasi tertinggi ekstrak etanol biji *P. americana* yang diperoleh berdasarkan hasil dari orientasi adalah 70 mg/ml sehingga diperoleh dosis maksimal 1,40 g/kgBB. Kemudian ditentukan tingkatan dosis ekstrak etanol biji *P. americana*, yaitu 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB.

#### C. Hasil Uji Efek Hepatoprotektif Jangka Panjang Ekstrak Etanol Biji *P. americana*

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan efek hepatoprotektif jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida. Penelitian ini dilakukan dengan praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* satu kali sehari selama enam hari secara per oral berturut-turut terinduksi Karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB dan sebagai akibatnya terjadi penurunan dari aktivitas serum ALT dan serum AST. Data aktivitas serum ALT dan serum AST dianalisis dengan analisis variansi satu arah dan menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $<0,05$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa antar kelompok terdapat perbedaan. Selanjutnya, dilakukan uji *Scheffe*

yang bertujuan untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antar kelompok, Aktivitas serum ALT dan serum AST (U/l) disajikan dalam bentuk purata  $\pm$  SE pada tabel VIII dan X serta gambar 7 dan 8.

**Tabel VIII.** Purata  $\pm$  SE aktivitas serum ALT dan AST tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak Etanol Biji *P. americana* terinduksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB ( n = 5 )

Kelompok Perlakuan	Purata aktivitas serum ALT $\pm$ SE (U/l)	Purata aktivitas serum AST $\pm$ SE (U/l)
Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	183,2 $\pm$ 5,11	476,8 $\pm$ 14,2
Kontrol ekstrak (EEPA 1,4 g/kgBB)	48,0 $\pm$ 0,3	64, 6 $\pm$ 1,2
Kontrol negatif <i>olive oil</i> 2 ml/kgBB	47,6 $\pm$ 1,9	60,2 $\pm$ 2,3
Kontrol positif <i>curliv</i> 4,05 ml/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	105,4 $\pm$ 7,3	377,0 $\pm$ 15,3
EEPA 0,35 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	79,0 $\pm$ 1,4	138,6 $\pm$ 3,2
EEPA 0,7 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	79,4 $\pm$ 2,5	137,0 $\pm$ 5,6
EEPA 1,4 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	85,0 $\pm$ 2,0	167,0 $\pm$ 3,5

Keterangan : EEPA = Ekstrak Etanol Biji *P. americana*

Hasil analisis statistik data serum ALT menunjukkan bahwa distribusi normal sehingga bisa dilanjutkan ke analisis variansi satu arah. Analisis menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ( $< 0,05$ ) menunjukkan terdapat perbedaan bermakna diantara kelompok. Oleh karena itu, untuk melihat perbedaan tiap kelompok dilanjutkan dengan menggunakan uji *Scheffe*. Sehingga diperoleh hasil analisis dari uji *Scheffe* yang dapat dilihat pada tabel IX.

**Tabel IX.** Hasil uji *Scheffe* aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	kontrol ekstrak (EEPA 1,4 g/kgBB)	Kontrol negatif <i>olive oil</i> 2 ml/kgBB	Kontrol positif <i>curliv</i> 4,05 ml/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 0,35 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 0,7 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 1,4 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB
Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	-	BB	BB	BB	BB	BB	BB
kontrol ekstrak (EEPA 1,4 g/kgBB)	BB	-	TB	BB	BB	BB	BB
Kontrol negatif <i>olive oil</i> 2 ml/kgBB	BB	TB	-	BB	BB	BB	BB
Kontrol positif <i>curliv</i> 4,05 ml/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	-	BB	BB	BB
EEPA 0,35 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	-	TB	TB
EEPA 0,7 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	TB	-	TB
EEPA 1,4 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	TB	TB	-

Keterangan :

B = Berbeda bermakna ( $p \leq 0,05$ ) TB = Berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

EEPA = Ekstrak Etanol Biji *P. americana*.

Data serum AST yang telah dianalisis menunjukkan bahwa distribusi normal sehingga bisa dilanjutkan ke analisis variansi satu arah dan diketahui nilai signifikansi 0,000 ( $<0,05$ ). Nilai ini menunjukkan bahwa antara keenam kelompok

terdapat perbedaan. Selanjutnya, untuk mengetahui kebermaknaan perbedaan antar kelompok digunakan uji *Scheffe*. Sehingga diperoleh hasil analisis dari uji *Scheffe* yang dapat dilihat pada tabel X.

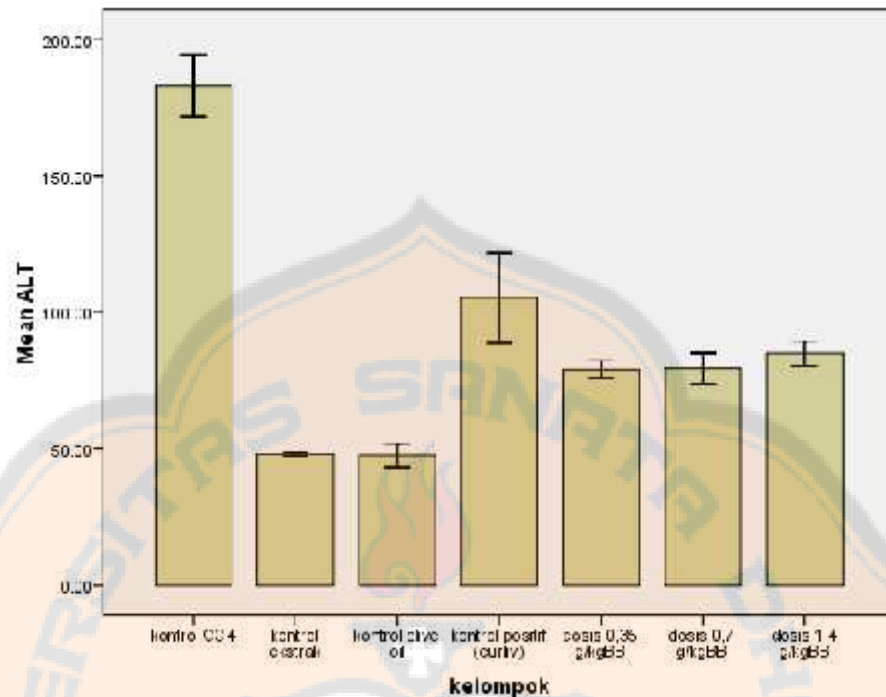
**Tabel X.** Hasil uji *Scheffe* aktivitas serum AST tikus setelah pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB pada kelompok perlakuan

Kelompok Perlakuan	Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	kontrol ekstrak (EEPA 1,4 g/kgBB)	Kontrol negatif <i>olive oil</i> 2 ml/kgBB	Kontrol positif <i>curliv</i> 4,05 ml/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 0,35 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 0,7 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	EEPA 1,4 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB
Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	-	BB	BB	BB	BB	BB	BB
kontrol ekstrak (EEPA 1,4 g/kgBB)	BB	-	TB	BB	BB	BB	BB
Kontrol negatif <i>olive oil</i> 2 ml/kgBB	BB	TB	-	BB	BB	BB	BB
Kontrol positif <i>curliv</i> 4,05 ml/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	-	BB	BB	BB
EEPA 0,35 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	-	TB	BB
EEPA 0,7 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	TB	-	BB
EMMT 1,4 g/kgBB + karbon tetraklorida 2 ml/kgBB	BB	BB	BB	BB	BB	BB	-

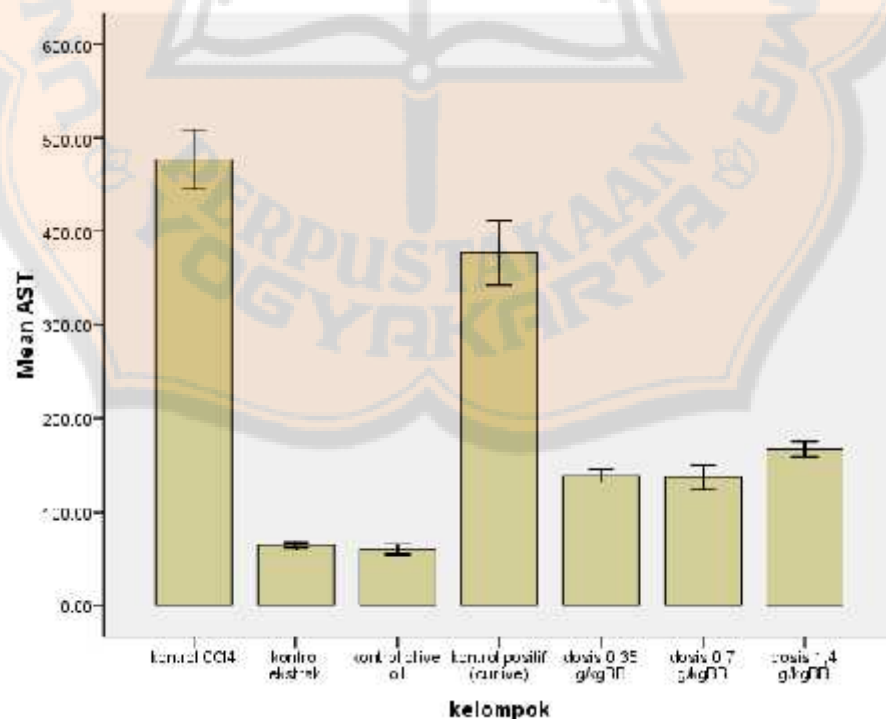
Keterangan :

B = Berbeda bermakna ( $p \leq 0,05$ ) TB = Berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

EEPA = Ekstrak Etanol Biji *P. americana*



**Gambar 7.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak ekstrak etanol Biji *P. americana* 1 x sehari selama 6 hari terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB



**Gambar 8.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus praperlakuan jangka panjang ekstrak ekstrak etanol Biji *P. americana* 1 x sehari selama 6 hari terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB

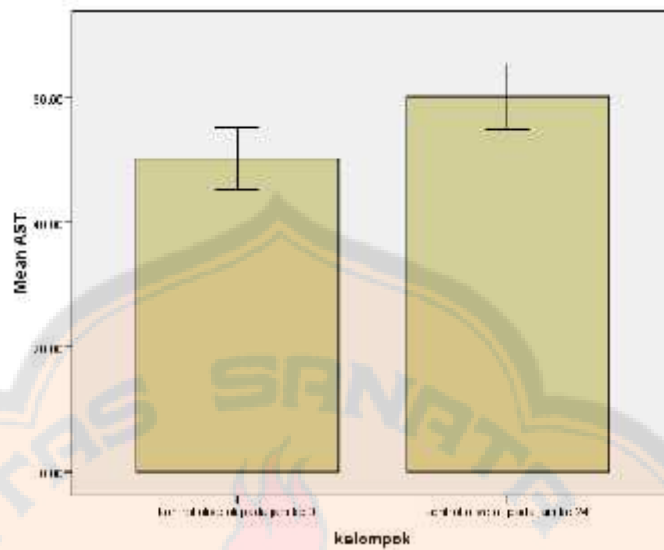
### 1. Kontrol negatif *olive oil* dosis 2 ml/kgBB

Pengujian kelompok kontrol negatif *olive oil* (kelompok III) bertujuan untuk memastikan bahwa pelarut hepatotoksin karbon tetraklorida yakni *olive oil*, tidak berpotensi untuk menimbulkan efek toksik. Dosis *olive oil* yang digunakan dalam penelitian ini sama dengan dosis hepatotoksin karbon tetraklorida yaitu 2 ml/kgBB. Hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa peningkatan aktivitas serum ALT dan AST bukan akibat pemberian *olive oil* sebagai pelarut melainkan karena akibat pemberian hepatotoksin karbon tetraklorida. Aktivitas serum ALT dan AST kontrol negatif *olive oil* pada jam ke 24 berturut-turut adalah  $47,6 \pm 1,9$  U/l dan  $60,2 \pm 2,3$  U/l. Aktivitas serum ALT dan AST kontrol negatif *olive oil* pada jam ke 0 sebesar  $41,6 \pm 1,1$  U/l dan  $50,2 \pm 2,2$  U/l (Tabel XI).

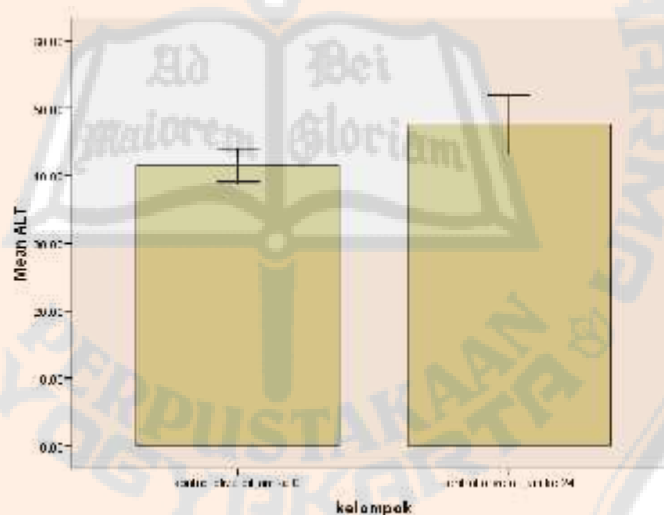
Secara statistik, apabila aktivitas serum ALT dan AST kontrol *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada jam ke 24 dibandingkan dengan jam ke 0, maka terdapat perbedaan bermakna (Tabel XII). Hal ini berarti *olive oil* sebagai pelarut karbon tetraklorida memberikan pengaruh meningkatnya aktivitas serum ALT dan AST, namun perubahan yang terjadi masih dalam kadar serum ALT dan AST normal.

**Tabel XI.** Purata aktivitas serum ALT dan serum AST tikus setelah pemberian *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam ( n=5 )

Selang waktu (jam)	Purata aktivitas serum ALT $\pm$ SE	Purata aktivitas serum AST $\pm$ SE
0	$41,6 \pm 1,1$ U/l	$50,2 \pm 2,2$ U/l
24	$47,6 \pm 1,9$ U/l	$60,2 \pm 2,3$ U/l



**Gambar 9.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum ALT tikus setelah pemberian *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam



**Gambar 10.** Diagram batang rata-rata aktivitas serum AST tikus setelah pemberian *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam

**Tabel XII.** Hasil uji *T* aktivitas serum ALT dan serum AST tikus setelah pemberian *olive oil* dosis 2 ml/kgBB pada selang waktu 0 dan 24 jam

Selang waktu (jam)		Aktivitas serum ALT		Aktivitas serum AST	
		0	24	0	24
Aktivitas serum ALT	0	-	BB		
	24	BB	-		
Aktivitas serum AST	0			-	BB
	24			BB	-

Keterangan :

B = Berbeda bermakna ( $p < 0,05$ ) TB = Berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

Berdasarkan hal tersebut, maka dapat dikatakan bahwa apabila terjadi kenaikan aktivitas serum ALT dan AST pada kelompok kontrol hepatotoksin maupun kelompok perlakuan dipastikan itu bukan karena penggunaan *olive oil* sebagai pelarut. Kelompok kontrol negatif *olive oil* nantinya akan dipakai sebagai dasar nilai aktivitas serum ALT dan serum AST normal pada penelitian ini.

## **2. Kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB**

Pengukuran aktivitas serum ALT dan serum AST pada kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB (Kelompok I) bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB terhadap sel hati tikus berupa peningkatan aktivitas serum ALT dan AST. Selain itu, kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB menjadi patokan dalam menganalisis efek hepatoprotektif dari ekstrak etanol biji *P. americana*. Uji ini dilakukan dengan memejankan karbon tetraklorida 2 ml/kgBB secara *intraperitoneal* pada tikus, kemudian pada jam ke-24 diambil darahnya untuk diukur aktivitas serum ALT dan serum AST (Janakat dan Merie, 2002).

Aktivitas serum ALT kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB adalah  $183,2 \pm 5,11$  U/l. Apabila dibandingkan dengan kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB (Kelompok II) sebesar  $47,6 \pm 1,9$  U/l. Aktivitas serum AST kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB sebesar  $460,2 \pm 14,2$  U/l. Nilai serum AST kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB sebesar  $60,2 \pm 2,3$  U/l. Data dianalisis dengan uji lanjutan uji *Scheffe* terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida dan kelompok kontrol negatif



*olive oil*. Hal ini menunjukkan pada kelompok perlakuan hepatotoksin karbon tetraklorida sudah terjadi perubahan berupa kerusakan pada hepar.

Aktivitas serum ALT merupakan parameter utama terjadinya kerusakan pada sel hati sedangkan aktivitas serum AST sebagai parameter pendukung kerusakan pada sel hati. Menurut Ziemmerman (1999), nilai serum ALT kerusakan hati ringan *steatosis* meningkat mencapai tiga kali lipat terhadap nilai normal dan nilai serum AST mencapai empat kali lipat terhadap nilai normal. Hasil pengukuran pada penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan  $\pm 3$  kali yang dapat menunjukkan terjadinya kerusakan ringan terhadap sel hati tikus, yaitu *steatosis*. Adapun hasil pengukuran aktivitas serum AST menunjukkan adanya kenaikan sekitar 4 kalinya. Adanya kenaikan aktivitas ALT dan AST pada hasil pengukuran tersebut, menegaskan bahwa pemberian karbon tetraklorida 2 ml/kgBB mengakibatkan efek hepatotoksin pada tikus jantan.

### **3. Kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 1,4 g/kgBB**

Pembuatan kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* (Kelompok II) bertujuan untuk melihat apakah pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 1,4 g/kgBB memberikan pengaruh terhadap aktivitas ALT dan AST. Pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* pada uji ini, dilakukan secara oral dan dengan dosis terbesar dari ekstrak etanol biji *P. americana*, yakni 1,4 g/kgBB. Menggunakan dosis tersebut harapannya hasil uji ini, berlaku untuk uji praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dari dosis rendah 0,35 g/kgBB hingga dosis tertinggi 1,4 g/kgBB.

Pada tabel VIII, aktivitas serum ALT kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 1,4 g/kgBB adalah  $48,0 \pm 3,0$  U/l, sedangkan aktivitas serum ALT kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB sebesar  $47,6 \pm 1,9$  U/l. Apabila keduanya dibandingkan, maka aktivitas serum ALT terlihat hampir mendekati sama (0,00), secara statistik berbeda tak bermakna (Tabel IX). Aktivitas serum ALT kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 1,4 g/kgBB menunjukkan perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kelompok hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB.

Data aktivitas serum AST kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* sebesar  $64,6 \pm 1,2$  U/l. Apabila secara statistik, dibandingkan dengan aktivitas serum AST kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB sebesar  $60,2 \pm 2,3$  U/l menunjukkan terdapat perbedaan yang tidak bermakna. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* tidak memberikan pengaruh hepatotoksik pada sel hati tikus.

#### **4. Kontrol positif (*Curliv*<sup>®</sup>) dosis 4,05 ml/kgBB**

Pembuatan kontrol positif menggunakan *Curliv*<sup>®</sup> (Kelompok IV) dengan dosis 4,05 ml/kgBB bertujuan untuk melihat seberapa besar efek hepatoprotektif yang ditimbulkan terhadap sel hati yang terinduksi karbon tetraklorida dengan penurunan aktivitas serum ALT dan AST.

Pada tabel VIII, aktivitas serum ALT kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB sebesar  $105,4 \pm 7,3$  U/l, sedangkan aktivitas serum ALT kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB adalah  $183,2 \pm 5,11$  U/l. Aktivitas serum AST kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB adalah  $377,0 \pm 15,3$  dan

nilai serum AST kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB sebesar  $460,2 \pm 14,2$  U/l. Aktivitas serum ALT dan AST kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB mengalami penurunan yang berbeda secara statistik (Tabel IX dan X). Namun bila dibandingkan dengan kontrol *olive oil* memberikan perbedaan yang bermakna. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB memberikan pengaruh hepatoprotektif pada sel hati tikus, namun perubahan yang terjadi belum kembali pada keadaan normal.

**5. Kelompok perlakuan jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kg BB pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB**

Pengujian pada kelompok praperlakuan ini bertujuan untuk melihat efek hepatoprotektif praperlakuan jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* pada tikus jantan yang terinduksi karbon tetraklorida berdasarkan pada ada tidaknya penurunan aktivitas serum ALT dan serum AST. Hasil dari kelompok uji praperlakuan ini menunjukkan bahwa tidak adanya kekerabatan dosis dengan respon yang muncul. Semakin besar dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* yang diberikan, tidak dibarengi dengan respon yang muncul (Tabel VIII).

Aktivitas serum ALT pada kelompok V perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35 g/kgBB sebesar  $79,0 \pm 1,4$  U/l. Bila secara statistik dibandingkan dengan kelompok kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB dan kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB terdapat perbedaan bermakna (Tabel IX). Hal yang sama juga terlihat pada aktivitas serum AST kelompok V dosis 0,35 g/kgBB sebesar  $138,6 \pm 3,2$  U/l, bila secara statistik

dibandingkan terhadap kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB dan kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB. Hal ini berarti ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35 g/kgBB memiliki efek hepatoprotektif yakni mampu memberikan perlindungan terhadap sel hati, namun kerusakan yang terjadi akibat hepatotoksin karbon tetraklorida belum bisa kembali sepenuhnya seperti keadaan normal.

Aktivitas serum ALT pada kelompok VI perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,70 g/kgBB sebesar  $79,4 \pm 2,5$  U/l. Bila dibandingkan secara statistik dengan kelompok kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB dan kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB terdapat perbedaan bermakna (Tabel IX). Aktivitas serum AST kelompok VI dosis 0,70 g/kgBB sebesar  $137,0 \pm 5,6$  U/l menunjukkan perbedaan bermakna secara statistik terhadap kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB dan kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB. Hal ini berarti menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,70 g/kgBB memiliki efek hepatoprotektif, namun belum bisa kembali seperti keadaan normal sebagai akibat dari kerusakan yang ditimbulkan dari induksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB.

Aktivitas serum ALT pada kelompok VII perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 1,40 g/kgBB sebesar  $85,0 \pm 2,0$  U/l. Secara statistik apabila dibandingkan dengan kelompok kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB dan kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB terdapat perbedaan bermakna (Tabel IX). Hal yang sama juga terlihat pada aktivitas serum AST kelompok VII dosis 1,40 g/kgBB sebesar  $167,0 \pm 3,5$  U/l bila secara statistik

dibandingkan terhadap kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB dan kontrol hepatotoksin karbon tetraklorida 2 ml/kgBB menunjukkan adanya perbedaan bermakna. Hal ini berarti menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,70 g/kgBB memiliki efek hepatoprotektif, namun kerusakan yang ditimbulkan belum bisa kembali sepenuhnya seperti keadaan normal.

Hasil analisis statistik ketiga dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB bila dibandingkan kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna (Tabel IX). Hal ini berarti ketiga peringkat dosis perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* memberikan penurunan aktivitas yang lebih bagus dibandingkan *Curliv*<sup>®</sup>, terlihat dari nilai ALT dan AST yang lebih rendah. Penurunan aktivitas serum ALT dan AST ketiga dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* tersebut belum mencapai normal, dimana kerusakan yang ditimbulkan belum bisa kembali seperti keadaan normal. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan antioksidan yang terkandung dalam ekstrak belum cukup untuk menurunkan aktivitas serum ALT dan AST. Selain itu, hasil perhitungan nilai persen (%) daya hepatoprotektif dari ketiga dosis perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* terhadap kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB, yaitu sebesar 133,9; 133,4; dan 126,2% (Tabel XIII). Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan hepatoprotektif dari ketiga dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* lebih bagus dibandingkan *Curliv*<sup>®</sup>.

Adapun dalam penelitian ini, penyari yang digunakan bukan merupakan penyari murni yakni etanol 70% sehingga tidak diketahui secara pasti kandungan

senyawa aktif yang dapat larut dan tertarik dari ekstrak tersebut. Hal ini akan mempengaruhi penggunaan dosis ekstrak dimana dengan penggunaan penyari kombinasi dimungkinkan dapat menurunkan aktivitas penangkapan radikal bebas oleh senyawa antioksidan. Untuk itu, perlunya pengembangan lebih lanjut mengenai penggunaan penyari yang berbeda untuk menarik senyawa - senyawa yang mempunyai aktivitas penangkapan radikal bebas, sehingga dapat menjangkau dosis ekstrak yang kecil.

**Tabel XIII.** Nilai persen proteksi dan persen daya hepatoprotektif pada ketiga kelompok peringkat dosis ekstrak biji *Persea americana* Mill.

Kelompok Perlakuan	Persen (%) Proteksi Hepatoprotektif	Persen (%) Daya Hepatoprotektif
EEPA 0,35 g/kgBB	76,8	133,9
EEPA 0,7 g/kgBB	76,5	133,4
EEPA 1,4 g/kgBB	72,4	126,2

Nilai persen proteksi yang diperoleh dari ketiga kelompok peringkat dosis dari dosis terendah ke dosis tertinggi yaitu 76,8; 76,5; dan 72,4% (Tabel XIII). Hal ini menunjukkan bahwa tidak adanya kekerabatan antara dosis dengan nilai proteksi, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait dengan dosis di bawah 0,35 g/kgBB.

Karbon tetraklorida pada dosis rendah dapat menyebabkan perlemakan hati (*steatosis*). Mekanisme tersebut diperantarai oleh enzim sitokrom P-450 (CYP2E1) yang merupakan agen pereduksi dan mengkatalis adisi elektron yang mengakibatkan hilangnya satu ion klorin sehingga terbentuk radikal bebas triklorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ). Radikal bebas triklorometil adalah metabolit reaktif yang dimana dengan adanya  $\text{O}_2$  (oksigen) akan berubah menjadi radikal bebas

triklorometilperoksi ( $\bullet\text{OCCl}_3$ ) yang lebih reaktif. Radikal triklorometil yang dihasilkan dapat mengalami suatu reaksi yakni senyawa reaktif tersebut akan merusak sekitar dari sitokrom P-450, termasuk enzim itu sendiri dan retikulum endoplasma. Perusakan itu agar dapat berikatan secara kovalen dengan lemak mikrosomal dan protein, kemudian secara langsung akan bereaksi dengan membran fosfolipid dan kolesterol yang bersifat toksik. Selain itu mengakibatkan terjadinya peroksidasi lipid dimana reaksi ini menghasilkan juga radikal lipid yang akan mengaktifkan senyawa oksigen reaktif.

Pembentukan peroksidasi lipid menghasilkan senyawa *4-hydroxyalkenal* dan *hydroxynonenal* lainnya yang dapat menghambat sintesis protein dan menghambat enzim glukosa-6-phosphatase (Timbrell, 2008). Setelah satu sampai tiga jam pemejangan karbon tetraklorida, akan terjadi penumpukan trigliserida di hepatosit dan terlihat seperti droplet- droplet lipid. Lipid dalam hati yang terbentuk ini dapat menghambat sintesis protein sehingga menurunkan produksi lipoprotein, yang bertanggungjawab dalam transport lipid yaitu trigliserida untuk keluar dari hepatosit. Sebagai akibat terhambatnya proses transport lipid dalam pengeluaran trigliserida keluar dari hati akan menyebabkan *steatosis* (perlemakan hati).

Kandungan dalam biji *P. americana* diduga merupakan senyawa flavonoid dan fenol yang dapat tersari oleh pelarut yang bersifat polar yaitu etanol. Kemungkinan mekanisme kerja antioksidan dalam melindungi sel hati yang ditunjukkan dengan penurunan aktivitas serum ALT dan AST adalah menangkap radikal bebas triklorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ) yang merupakan metabolit reaktif,



kemudian menghentikan serangkaian peristiwa yang menyebabkan *steatosis* pada sel hati. Berdasarkan Frankel dan Meyer (2000), antioksidan pada biji *P. americana* berfungsi menghambat radikal bebas menginisiasi rantai reaksi oksidasi atau propagasi pada rantai reaksi oksidasi, sehingga kerusakan oksidatif dapat berkurang. Adanya kemungkinan mekanisme efek hepatoprotektif antioksidan yang terkandung dalam biji *P. americana*, maka nantinya dapat dilakukan pembuatan formulasi sediaan terkait dengan pengembangan obat herbal.

#### **D. Rangkuman Pembahasan**

Hasil penelitian menunjukkan bahwa praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* kelompok dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB mampu menurunkan aktivitas serum ALT dan serum AST pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida. Pada penelitian ini tidak ada kekerabatan dosis dengan respon yang muncul, yaitu semakin besar dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* yang diberikan, tidak diikuti dengan semakin besar efek hepatoprotektif. Hal ini terbukti dari perolehan hasil purata  $\pm$  SD aktivitas serum ALT dari kelompok praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dari dosis rendah hingga tinggi berturut-turut sebesar  $79 \pm 1,4$ ;  $79,4 \pm 2,5$ , dan  $85 \pm 2,0$  U/l. Hasil purata  $\pm$  SD untuk aktivitas serum AST berturut-turut adalah  $138,6 \pm 3,2$ ;  $137,0 \pm 5,6$ ; dan  $167,0 \pm 3,5$  U/l. Hasil tersebut menjawab permasalahan pertama dalam penelitian ini yaitu pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* mempunyai

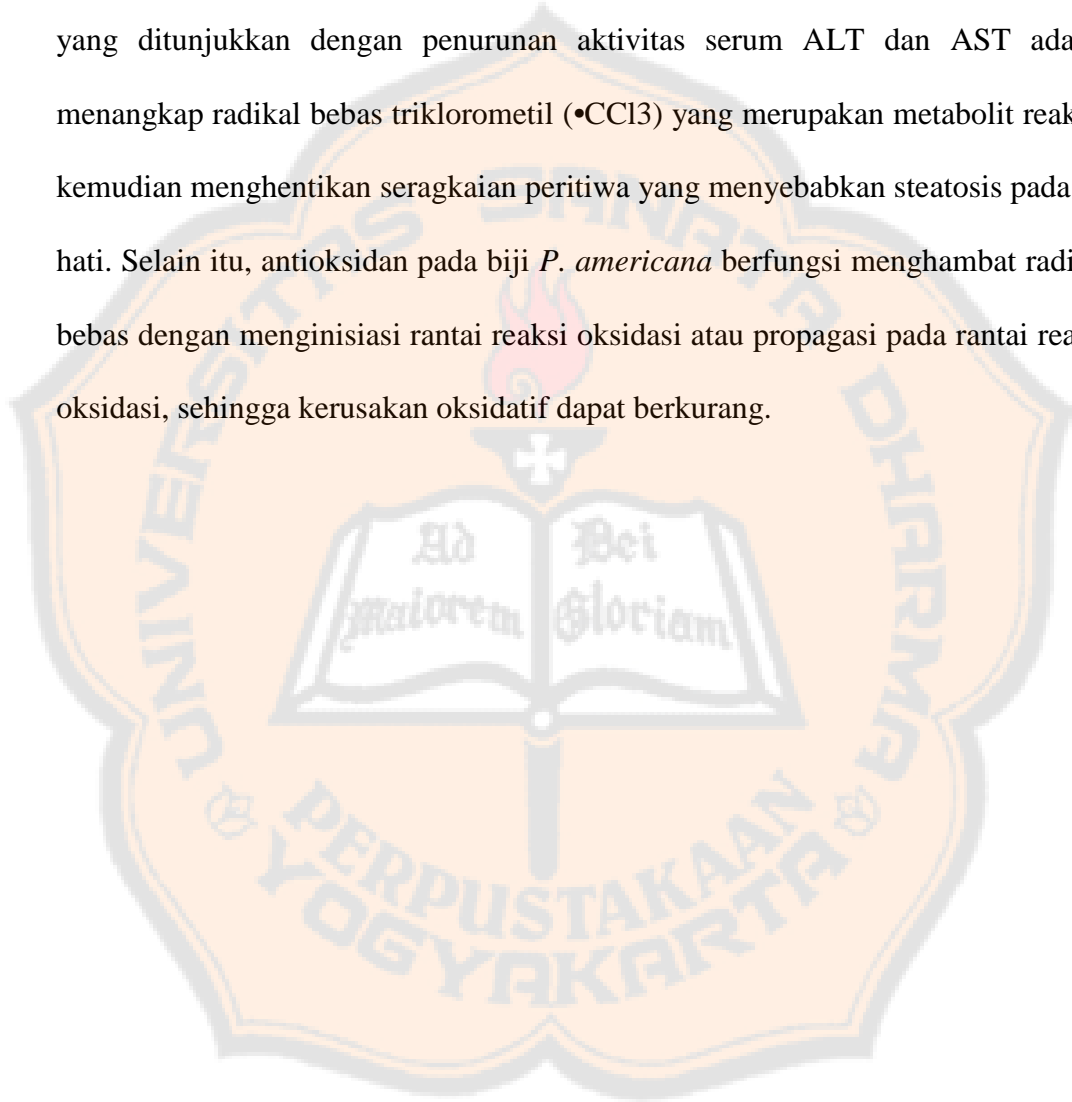


efek hepatoprotektif dengan cara menurunkan aktivitas serum ALT dan serum AST pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida.

Aktivitas serum ALT dan serum AST pada kelompok kontrol ekstrak etanol biji *P. americana* 1,40 g/kgBB secara statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna dibandingkan kelompok kontrol negatif *olive oil* 2 ml/kgBB. Ini berarti bahwa pemberian jangka panjang ekstrak etanol biji *P. americana* tidak memberikan pengaruh terhadap sel hati tikus jantan terinduksi karbon tetraklorida 2 ml/kgBB. Aktivitas serum ALT dan serum AST pada kelompok praperlakuan dosis ekstrak etanol biji *P. americana* menunjukkan ketiga peringkat dosis memberikan efek hepatoprotektif dengan % proteksi berturut-turut dari dosis rendah hingga tinggi sebesar 76,8; 76,5; dan 72,4% yang merupakan kemampuan untuk melindungi hati dari kerusakan akibat induksi hepatotoksin karbon tetraklorida.

Hasil analisis statistik ketiga dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB bila dibandingkan kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna dengan nilai persen (%) daya hepatoprotektif dari ketiga dosis perlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* terhadap kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB, yaitu sebesar 133,9; 133,4; dan 126,2%. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan hepatoprotektif dari ketiga dosis praperlakuan ekstrak etanol biji *P. americana* lebih bagus dibandingkan *Curliv*<sup>®</sup>, walaupun penurunan aktivitas ALT dan AST serumnya belum mencapai normal atau sama dengan kontrol negatif *Olive oil*.

Kandungan dalam biji *P. americana* diduga merupakan senyawa flavonoid dan fenol yang dapat tersari oleh pelarut yang bersifat polar yaitu etanol. Kemungkinan mekanisme kerja antioksidan dalam melindungi sel hati yang ditunjukkan dengan penurunan aktivitas serum ALT dan AST adalah menangkap radikal bebas triklorometil ( $\bullet\text{CCl}_3$ ) yang merupakan metabolit reaktif, kemudian menghentikan serangkaian peristiwa yang menyebabkan steatosis pada sel hati. Selain itu, antioksidan pada biji *P. americana* berfungsi menghambat radikal bebas dengan menginisiasi rantai reaksi oksidasi atau propagasi pada rantai reaksi oksidasi, sehingga kerusakan oksidatif dapat berkurang.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dan analisis statistik yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* memiliki efek hepatoprotektif pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida, yaitu berupa penurunan aktivitas ALT dan AST serum.
2. Persen proteksi dari efek hepatoprotektif pemberian ekstrak etanol biji *P. americana* dosis 0,35; 0,70; dan 1,40 g/kgBB pada tikus jantan galur Wistar terinduksi karbon tetraklorida adalah sebesar 76,8; 76,5; dan 72,4%.

#### B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang :

1. Penelitian terhadap dosis ekstrak etanol biji *P. americana*, dosis di bawah 0,35 g/kgBB.
2. Penggunaan penyari yang berbeda untuk menarik senyawa antioksidan guna menjangkau dosis ekstrak yang kecil.
3. Formulasi sediaan serbuk biji *P. americana* sebagai alternatif pengobatan penyakit hati.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adeyemi, O.O., Okpo, S.O., Ogunti, O.O., 2002, Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of The Aqueous Extract of Leaves of *Persea americana* (Lauraceae), *Fitoterapia*, 73, 375-380.
- Agnieszka, K., Magdalena, K., Isabel, E., Teresa, H., Begon, B., and Gary, A.D., 2012, Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of *Persea americana* Mill. Peels and Seeds of Two Varieties, *J. Agric. Food Chem.*, 60, 4613–4619.
- Alhassan, A.J., Sule, M.S., Atiku, M.K., Wudil, A.M., Abubakar, H., Mohammed, S.A., 2012, Effects of Aqueous Avocado Pear (*Persea americana*) Seed Extract on Alloxan Induced Diabetes Rats, *Greener J of Med Sciences*, Vol. 2 (1), 005-011.
- Arukwe, U., Amadi, B.A., Duru, M.K.C., Agomuo, E.N., Adindu, E.A., Odika, P.C., Lele, K.C., Egejuru, L., and Anudike, J., 2012, Chemical Composition of *Persea americana* Leaf, Fruit and Seed, [www.arpapress.com/Volumes/Vol11Issue2/IJRRAS\\_11\\_2\\_20.pdf](http://www.arpapress.com/Volumes/Vol11Issue2/IJRRAS_11_2_20.pdf).
- Backer, C.A., dan Bakhuizen van den Brink, R.C., 1963, *Flora of Java*, Vol 1, NV.P. Noordhoff-Groningen, The Netherlands.
- Behrman, Kliegman & Arvin Nelson, 1996, *Nelson Textbook of Pediatrics*, 15/E, W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pennsylvania, PP. 1119.
- Bruckner, J.V., dan Warren, O.A., 2001, *Toxic Effect of Solvent and Vapors*, Mc Graw Hill, New York, pp. 887.
- Dinkeskab, 2005, *Data statistik Dinas Kesehatan Kabupaten Jember*, Jember.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan RI, 1995, *Farmakope Indonesia*, jilid IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta
- Edem, D.O., dan Akpanabiatsu, M.I., 2006, Effects of Palm Oil-Containing Diets on Enzyme Activities of Rats, *Pakistan J Nutr* 5(4):301- 305.
- Elvin-Lewis Z., 2001, Should We Concerned About Herbal Remedies. *J Ethnopharmacol*, 75:141–164. doi: 10.1016/S0378-8741(00)00394-9.
- Evelyn C. P., 2009, *Anatomy and Physiology for Nurse*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, PP. 243.
- Forrest, E., 2006, *Hepatic Disorders*, Edisi 2, Pharmaceutical Press, London, pp. 193, 201 – 202.

- Frankel, E. N.; Meyer, A. S, 2000, The Problems of Using One Dimensional Methods to Evaluate Multifunctional Food And Biological Antioxidants, *Food Agric.* 80, 1925–1941.
- Ganong, W., dan McPhee, S.J., 2011, *Patofisiologi Penyakit : Pengantar Menuju Kedokteran Klinis*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp. 419-462.
- Garri, Theresia, 2013, Efek Hepatoprotektif Ekstrak Metanol:Air (50:50) Daun *Macaranga tanarius* L. Terhadap Kadar Alt-Ast Serum Pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma Yogyakarta, Yogyakarta.
- Gregus dan Klaaseen, C. D., 2001, Mechanism of Toxicity, in Klaaseen, C. D., *Cassarett and Doull's Toxicology: the Basic Science Poisons*, 6th edition, McGraw-Hill, New York, pp. 57-64.
- Halliwell B and Gutteridge J, 1984, Oxygen Toxycit, Oxygen Radical, Transition Metals And Disease, *Biochem J*; 219; (1-14).
- Hastuti, T., 2008, Aktivitas Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Tikus yang Diberikan Kelapa Kopyor Pasca Induksi Parasetamol, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Janakat, S., dan Merie, A.H., 2002, Optimization of the Dose and Route of Injection, and characterization of the Time Course of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity in the Rat, *JPT*, 48, 41-44.
- Javier, G.R.C., David, M., María, J.A., Petri, K., and Mario, E., 2011, Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties, *J. Agric. Food Chem.*, 59, 5625–5635.
- Kurniawati, A. Y., Adrinto, E. E., dan Henda, P., 2011, Uji Praklinik Esktrak Metanol-Air *Macaranga tanarius* L. Kajian : Aktivitas Antiinflamasi dan Hepatoprotektif, *Kongres Ilmiah dan Rapat Kerja Nasional IAI 2011*, IAI, Manado.
- Kolawole1, O.T., Kolawole, S.O., Ayankunle, A.A., and Olaniran, I.O., 2012, Methanol Leaf Extract of *Persea americana* Protects Rats against Cholesterol-Induced Hyperlipidemia, *British J of Med & Medical Research* 2(2), 235-242.
- Lim, T. K., 2012, *Edible Medical and Non-Medical Plants*, Books 3, Springer Dordrecht Heidelberg, London, New York, PP. 78-101.

- Lu, F.C., 1995, *Toksikologi Dasar*, Edisi 2, UI Press, Jakarta, pp.209-210.
- Lu, Q.Y., Arteaga, J.R., Zhang, Q., Huerta, S., Go, V.L., Heber, D., 2005, Inhibition of Prostate Cancer Cell Growth By An Avocado Extract: Role of Lipid-Soluble Bioactive Substances. *J Nutr Biochem*, 16(1), 23-30.
- Mandal, S., Maity, T., Das, J., Pal, M., & Saha, B., 1999, Hepatoprotective Activity of Ficus Racemosa Leaf Extract on Liver Damage Caused By Carbon Tetrachloride In Rats, *Phytotherapy Research*, 13, 430– 432.
- Mary, B., Mary W. D., Yakobus, S., 2005, *Seri Asuhan Keperawatan : Klien Gangguan Hati*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp. 43-47.
- Mercer University School of Medicine, 2012, *Hepatic Pathology*, <http://library.med.utah.edu/WebPath/webpath.html>, diakses tanggal 15 Juni 2013.
- Nayak, B.S., Raju, S.S., Chalapathi Rao, A.V., 2008, Wound Healing Activity of *Persea Americana* (Avocado) Fruit: A Preclinical Study on Rats, *J Wound Care*, 17(3), 123-126.
- North-Lewis, P., 2008, *Drugs and the Liver*, Pharmaceutical Press, London.
- Ogochukwu, N.A., Raymond, I.O., and Stephen, O.O., 2009, Effect of The Aqueous Seed Extract of *Persea americana* Mill. (Lauraceae) on The Blood Pressure of Spraguedawley Rats, *African J of Pharm & Pharmacology.*, 3(10), 485-490.
- Okwu, D.E., Okwu, M.E, 2004, Chemical Composition of Spondias mombia Linn Plant Parts, *J.Sustain Agric.EnvIRON*, 6:140-147.
- Ortiz, M.A., Dorantes, A.L., Gallindez, M.J., Cardenas, S.E. 2004, Effect of A Novel Oil Extraction Method on Avocado (*Persea americana*) Pulp Microstructure. *Plant Foods Hum Nutr.*, 59(1), 11-14.
- Owolabi MA, Jaja SI, Coker HA, 2005, Vasorelaxant Action of Aqueous Extract of The Leaves of *Persea americana* on Isolated Thoracic Rat Aorta, *Fitoterapia*, 76: 567–573.
- Ozolua, R.I., Anaka, O.N., Okpo, S.O., Idogun, S.E., 2009, Acute And Subacute Toxicological Assessment of The Aqueous Seed Extract of *Persea Americana* Mill (Lauraceae) in Rats. *Afr. J Tradit Complement Altern Med.*, 6(4), 573-578.

- Plaa, G.L., dan Charbonneau, M., 2001, Detection and Evaluation of Chemically Induced Liver Injury, in Hayes, W.A., *Principles and Methods of Toxicology*, 4th edition, Taylor and Francis, Philadelphia, pp. 1148-1175.
- Plantamor, 2008, *Informasi Spesies-Persea Americana* Mill., <http://www.plantamor.com/index.php?plant=970>, diakses tanggal 28 Maret 2013.
- Price, S. A., dan Wilson, L.M., 2005, *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*, Edisi 6, Vol 1, Penerbit EGC, Jakarta, pp. 473-476.
- Proseanet, 2012, *Persea americana* [http://www.proseanet.org/prohati4/browser.php?keywords=persea+americana&do\\_search=Search+Now&pcategory=0](http://www.proseanet.org/prohati4/browser.php?keywords=persea+americana&do_search=Search+Now&pcategory=0), diakses tanggal 3 Maret 2013.
- Poli, G., & Parola, M., 1997, Oxidative Damage And Fibrogenesis, *Free Radic. Biol. Med.* 22: 287-305.
- Purwanti, Elly, 2009, Profil Komponen Bioaktif Tanaman Kava-Kava (*Piper methysticu*, Forst) Dengan Pelarut Etanol dan Metanol, *Skripsi*, Fakultas Kejuruan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang.
- Rechnagel RO, Glende EA, Dolak JA, and Waller RL, 1989, Mechanisms of Carbon Tetrachlorida Toxicity, *J Pharmacol Exp Ther* ; 43; 139-154).
- Robbins & Cotran, 2005, *Pathologic Basis of Disease*, 7<sup>th</sup> edition, Elsevier Inc., New York, USA, pp. 899 – 975.
- Sacher, R.A., dan McPherson, R. A., 2002, *Tinjauan Klinis Hasil Pemeriksaan*, Edisi 11, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, pp. 369-370.
- Salah, W., Miller, N.J.,Pangauga, Tijburg, Bolwell,G.P., Rice, E., and Evans, C, 1995, Polyphenolicflavonls As Scavengers of Aqueous Phase Radicals As Chainbreaking Antioxidant, *Arch. Biochem. Biorh*, pp. 2:339-346.
- Sastrohamidjojo, 1996, *Sintesis Bahan Alam*,Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Shirly K., Hesty U., and Wahyu K. S., 2013, The Effect of Avocado (*Persea Americana* Mill.) Leaves Extract Towards The Mouse's Blood Glucose Decrease With The Glucose Tolerance Method, *International J of Pharm Sciences & Research*, Vol. 4(2): 661-665.



- Sofia, N. A., Nurdjanah, S., dan Ratnasari, N., 2009, Kadar Leptin pada Populasi non Diabetes dengan dan tanpa Non Alcoholic Fatty Liver (NAFL), *Berkala Kesehatan Klinik*, 15 (1), 49-55.
- Soong, Y. and Barlow, P. J., 2004, Antioxidant Activity And Phenolic Content of Selected Fruit Seeds. *Food Chem.*, 88(3) : 411–417.
- Stray, F., 1988, *The national guide to medicinal herbs and plants*, Tiger Books International, London. pp.12-46.
- Stockham, S. L., 2002, *Scott MA. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*, Ed. ke-1, Blackwell publishing Co., Iowa state Pr., pp. 433-486.
- Sudarmaji, S., Haryono, B., dan Suhardi, 1989, *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*, Libery, Yogyakarta.
- Sudiana, Ketut, 2008, *Patologi Molekul Kanker*, Salemba Medika, Jakarta, pp. 46.
- Timbrell, J. A. 2008, *Principles of Biochemical Toxicology*, 4th Edition, Informa Healthcare, New York, pp 308-311.
- Treinen, M., dan Moslen, 2001, *Toxic Responses of The Liver*, in Klaassen, C. D., *Cassarett and Doull's Toxicology : The Basic Science of poisons*, 6th edition, Mc. Graw Hill Companies, Inc., New York, pp. 467-481.
- Wahyuni, S., 2005, Pengaruh Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*, Ness) Terhadap Kadar ALT dan AST Tikus Putih, *GAMMA*, 1 (1), 45-53.
- Wibowo, D. S., dan Paryana, W., 2009, *Anatomi Tubuh Manusia*, Graha Ilmu, Bandung, pp. 347-352.
- World Agroforestry Centre, 2002, Botanic Nomenclature to Agroforestry trees: *Persea americana*, World Agroforestry Centre, Available: <http://www.worldagroforestry.org/sea/products/afdbases/af/asp/SpeciesInfo.asp?SpID=1274>, diakses tanggal 3 Maret 2013.
- Wyngaarden, J., B., 1982, *The Textbook of Medicine*, Vol I, W. B. Saunders Co. Philadelphia. pp. 169.
- Yadav, M.S., Kumar, A., Singh, A., Sharma, U.S., Sutar, N., 2011, Phytochemical Investigation and Hepatoprotective Activity of *Cissampelos pareira* Against Carbon-Tetrachloride Induced Hepatotoxicity, *Asian J. Pharm. Hea. Sci.*, 1, 109.
- Ziemmerman, H. J., 1999, *Hepatotoxicity*, 2nd edition, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 195-210.



# LAMPIRAN





Lampiran 1. Foto serbuk biji *Persea americana* Mill.



Lampiran 2. Foto ekstrak kental biji *Persea americana* Mill.



Lampiran 3. Foto larutan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill.

**Lampiran 4. Surat pengesahan determinasi biji *Persea americana* Mill.**



**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA**

(Kampus III): Puingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55284  
Telp. (0274) 883037, 883968 Fax. (0274) 886529-Telegram : SADHAR YOGYA  
E-mail: [Farmanig@staff.usd.ac.id](mailto:Farmanig@staff.usd.ac.id)

**SURAT PENGESAHAN DETERMINASI**

No : 57 /LKTO/far-USD /07 /13

Telah dilakukan determinasi tanaman dengan hasil :

Spesies : *Persea americana* Mill.  
( Alpukat )

Sesuai herbarium (yang telah dideterminasi) yang disimpan di laboratorium Farmakognosi-Fitokimia  
Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma

Tanaman tersebut akan digunakan dalam penelitian :

**EFEK HEPATOPROTEKTIF PEMBERIAN JANGKA PANJANG EKSTRAK ETANOL  
BIJI *Persea americana* Mill TERHADAP KADAR ALT DAN AST SERUM PADA TIKUS  
TERINDUKSI KARBON TETRAKLORIDA**

Oleh :

Komang Ayu Nopitasari  
108114008

Demikian surat pengesahan determinasi ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Mengesahkan,  
Kepala Laboratorium

Rini Dwiastuti, M.Sc., Apt.

Yogyakarta, 14 Juni 2013

Determinator

Yohanes Dwiastmaka, M.Si.

**Lampiran 5. Determinasi biji *Persea americana* Mill.**

Determinasi			
Bahan: serbuk biji alpukat			
Metode: Perbandingan dengan bahan otentik			
Determinasi buah dan biji: <a href="http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PEAM3&amp;photo=apeam3_002.jpg&amp;http://">http://plants.usda.gov/java/profile?symbol=PEAM3&amp;photo=apeam3_002.jpg&amp;http://</a>			
Determinasi sampel serbuk biji: organoleptis dan mikroskopis serbuk			
Hasil			
Organoleptis:			
Organoleptis	Pembandingan serbuk biji alpukat	Sampel serbuk alpukat	Keterangan
Warna	coklat	Coklat lebih terang	Ada sedikit variasi
Rasa	Tawar, lalu sedikit pahit-kelat	Tawar, lalu sedikit pahit-kelat	Sama
Aroma	Tidak ada bau khas	Tidak ada bau khas	Sama
Ciri lain	Ada butiran-butiran kehitaman	Ada butiran-butiran kehitaman	Sama

**Hasil determinasi biji *P.americana***



**Gambar amilum secara mikroskopis**



Gambar endosperm dan amilum biji *P. americana* secara mikroskopis



Gambar amilum pembanding dan sampel *P. americana* secara mikroskopis



Gambar Endosperm *P.americana* secara mikroskopis



**Lampiran 6. Surat pengesahan Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC)**



**MINISTRY OF EDUCATION AND CULTURE  
FACULTY OF MEDICINE GADJAH MADA UNIVERSITY  
MEDICAL AND HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE (MHREC)**

**ETHICS COMMITTEE APPROVAL**

Ref : KE/FK/ 741 /EC

Title of the Research Protocol : Efek Hepatoprotektif dan Nefroprotektif Pemberian Infusa, Dekok, Ekstrak Etanol, Metanol Biji *Persea Americana* Mill. Dengan Melihat Penurunan Kadar SGPT, SGOT dan Kreatinin Serum serta Gambaran Histologi Ginjal pada Tikus Putih Jantan Wistar Terinduksi Karbon Tetraklorida

Documents Approved : Study Protocol versi 02 2013

Principle Investigator : Liana Risha G

Participating Investigator(s) :

1. Priscilla Diana V V	8. Ike Kumala S
2. Robert Dwijantara P	9. Irene
3. Maria Malida V S	10. Yudhita A Q
4. N L P Dian P P	11. Angelia Rosari
5. Gidion K Y	12. Andrienne RA
6. Inneke Devi P	13. Rotuawinata S
7. Lydia Setiawan	14. Komang A N S

Name of supervisor : Phebe Hendra, M.Si, PhD, Apt

Date of Approval : 02 AUG 2013

(Valid for one year beginning from the date of approval)

Institution(s)/place(s) of research : Hunian Sementara Gondang 1 Kabupaten Sleman

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) states that the above protocol meets the ethical principle outlined in the Declaration of Helsinki 2008 and therefore can be carried out.

The Medical and Health Research Ethics Committee (MHREC) has the right to monitor the research activities at any time.

The investigator(s) is/are obliged to submit:

☐ Progress report as a continuing review : Annually

☐ Report of any serious adverse events (SAE)

☒ Final report upon the completion of the study



Prof. dr. Mohammad Hakimi, Sp. OG (K), Ph.D  
Chairman



Dr. dr. Eti Nurwening Sholikhah, M.Kes  
Secretary

Attachments:

☐ Continuing review submission form (AF 4.3.01-014.2012-02)

☐ Serious adverse events (SAE) report form (AF 6.1.01- 019.2012-02)

**Lampiran 7. Analisis statistik aktivitas serum ALT pada uji pendahuluan penentuan waktu pencuplikan darah**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam0	3	68.0000	16.70329	50.00	83.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jam0
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	68.0000
	Std. Deviation	1.67033E1
Most Extreme Differences	Absolute	.238
	Positive	.193
	Negative	-.238
Kolmogorov-Smirnov Z		.412
Asymp. Sig. (2-tailed)		.996
a. Test distribution is Normal.		

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam24	3	2.0333E2	27.53785	185.00	235.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jam24
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	2.0333E2
	Std. Deviation	2.75379E1
Most Extreme Differences	Absolute	.353
	Positive	.353
	Negative	-.253
Kolmogorov-Smirnov Z		.611
Asymp. Sig. (2-tailed)		.850
a. Test distribution is Normal.		

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam48	3	54.6667	9.45163	44.00	62.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jam48
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	54.6667
	Std. Deviation	9.45163
Most Extreme Differences	Absolute	.304
	Positive	.219
	Negative	-.304
Kolmogorov-Smirnov Z		.527
Asymp. Sig. (2-tailed)		.944
a. Test distribution is Normal.		

Descriptives

ALT								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
1	3	68.0000	16.70329	9.64365	26.5067	109.4933	50.00	83.00
2	3	2.0333E2	27.53785	15.89899	134.9255	271.7412	185.00	235.00
3	3	54.6667	9.45163	5.45690	31.1875	78.1458	44.00	62.00
Total	9	1.0867E2	73.18470	24.39490	52.4119	164.9214	44.00	235.00

Test of Homogeneity of Variances

ALT			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.732	2	6	.143

ANOVA

ALT						
		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		40594.667	2	20297.333	54.046	.000
Within Groups		2253.333	6	375.556		
Total		42848.000	8			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

ALT  
Scheffe

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-135.33333 <sup>*</sup>	15.82310	.000	-186.0821	-84.5846
	3	13.33333	15.82310	.715	-37.4154	64.0821
2	1	135.33333 <sup>*</sup>	15.82310	.000	84.5846	186.0821
	3	148.66667 <sup>*</sup>	15.82310	.000	97.9179	199.4154
3	1	-13.33333	15.82310	.715	-64.0821	37.4154
	2	-148.66667 <sup>*</sup>	15.82310	.000	-199.4154	-97.9179

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



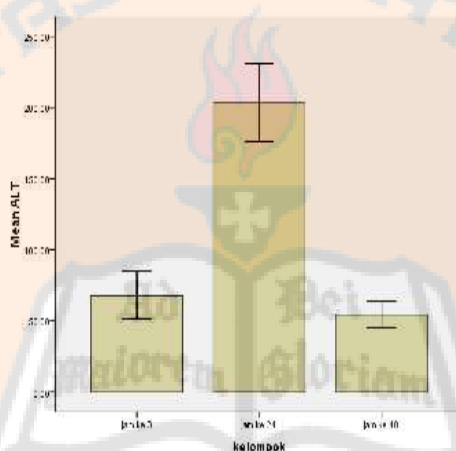
# Homogeneous Subsets

ALT

Scheffe

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
3	3	54.6667	
1	3	68.0000	
2	3		203.3333
Sig.		.715	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



## Lampiran 8. Analisis statistik aktivitas serum AST pada uji pendahuluan penentuan waktu pencuplikan darah

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam0	3	88.3333	6.50641	82.00	95.00

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jam0
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	88.3333
	Std. Deviation	6.50641
Most Extreme Differences	Absolute	.187
	Positive	.187
	Negative	-.181
Kolmogorov-Smirnov Z		.324
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000
a. Test distribution is Normal.		

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam24	3	4.4633E2	33.50124	410.00	476.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jam24
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	4.4633E2
	Std. Deviation	3.35012E1
Most Extreme Differences	Absolute	.246
	Positive	.194
	Negative	-.246
Kolmogorov-Smirnov Z		.425
Asymp. Sig. (2-tailed)		.994
a. Test distribution is Normal.		

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
jam48	3	1.4733E2	13.01281	134.00	160.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		jam48
N		3
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	1.4733E2
	Std. Deviation	1.30128E1
Most Extreme Differences	Absolute	.187
	Positive	.181
	Negative	-.187
Kolmogorov-Smirnov Z		.324
Asymp. Sig. (2-tailed)		1.000
a. Test distribution is Normal.		

## Oneway

### Descriptives

AST								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
1	3	88.3333	6.50641	3.75648	72.1705	104.4961	82.00	95.00
2	3	4.4633E2	33.50124	19.34195	363.1116	529.5550	410.00	476.00
3	3	1.4733E2	13.01281	7.51295	115.0077	179.6590	134.00	160.00
Total	9	2.2733E2	167.22515	55.74172	98.7927	355.8740	82.00	476.00

### Test of Homogeneity of Variances

AST				
Levene Statistic	df1	df2	Sig.	
3.169	2	6	.115	

### ANOVA

AST					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	221046.000	2	110523.000	248.552	.000
Within Groups	2668.000	6	444.667		
Total	223714.000	8			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

AST Scheffe

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-358.00000*	17.21756	.000	-413.2212	-302.7788
	3	-59.00000*	17.21756	.039	-114.2212	-3.7788
2	1	358.00000*	17.21756	.000	302.7788	413.2212
	3	299.00000*	17.21756	.000	243.7788	354.2212
3	1	59.00000*	17.21756	.039	3.7788	114.2212
	2	-299.00000*	17.21756	.000	-354.2212	-243.7788

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

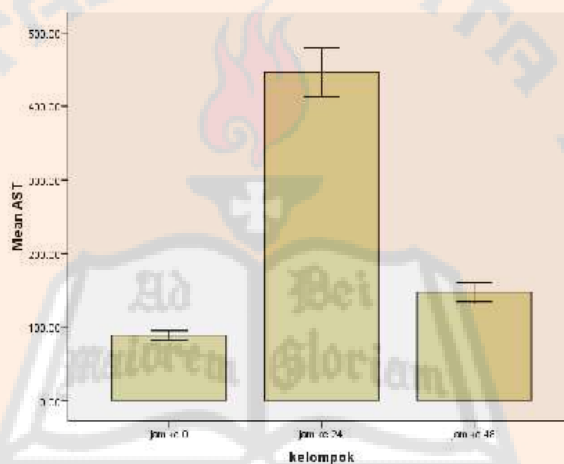
# Homogeneous Subsets

## AST

Scheffe

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	3	88.3333		
3	3		1.4733E2	
2	3			4.4633E2
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



## Lampiran 9. Analisis statistik aktivitas serum ALT dan AST perlakuan

### kontrol negatif *olive oil* dosis 2 ml/kgBB

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ALT0	5	41.6000	2.50998	40.00	46.00
ALT24	5	47.6000	4.39318	43.00	54.00

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	ALT0	ALT24
N	5	5
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	41.6000
	Std. Deviation	2.50998
Most Extreme Differences	Absolute	.394
	Positive	.394
	Negative	-.262
Kolmogorov-Smirnov Z	.882	.541
Asymp. Sig. (2-tailed)	.418	.931
a. Test distribution is Normal.		

**Paired Samples Statistics**

	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 ALT0	41.6000	5	2.50998	1.12250
ALT24	47.6000	5	4.39318	1.96469

**Paired Samples Correlations**

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 ALT0 & ALT24	5	.866	.058

**Paired Samples Test**

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair 1 ALT0 - ALT24	-6.00000	2.54951	1.14018	-9.16563	-2.83437	-5.262	4	.006

**Normalitas Selisih ALT dan AST**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
ALT	5	6.0000	2.54951	3.00	9.00
AST	5	10.0000	4.89898	4.00	16.00

**One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test**

		ALT	AST
N		5	5
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	6.0000	10.0000
	Std. Deviation	2.54951	4.89898
Most Extreme Differences	Absolute	.184	.258
	Positive	.184	.193
	Negative	-.184	-.258
Kolmogorov-Smirnov Z		.411	.578
Asymp. Sig. (2-tailed)		.996	.892
a. Test distribution is Normal.			

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
AST0	5	50.2000	4.96991	43.00	54.00
AST24	5	60.2000	5.26308	55.00	69.00

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

	AST0	AST24
N	5	5
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	50.2000
	Std. Deviation	4.96991
Most Extreme Differences	Absolute	.313
	Positive	.222
	Negative	-.313
Kolmogorov-Smirnov Z	.701	.705
Asymp. Sig. (2-tailed)	.710	.703
a. Test distribution is Normal.		

## T-Test

### Paired Samples Statistics

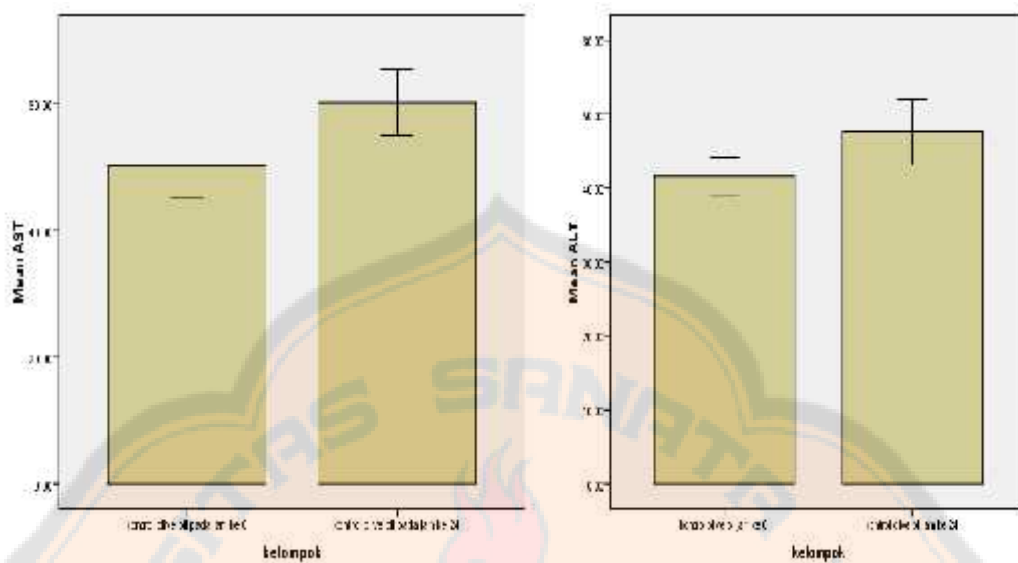
	Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1 AST0	50.2000	5	4.96991	2.22261
AST24	60.2000	5	5.26308	2.35372

### Paired Samples Correlations

	N	Correlation	Sig.
Pair 1 AST0 & AST24	5	.543	.344

### Paired Samples Test

	Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
				Lower	Upper			
Pair AST0 - AST24	.00000E1	4.89898	2.19089	-16.08289	-3.91711	-4.564	4	.010



**Lampiran 10. Analisis statistik aktivitas serum ALT perlakuan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. setelah induksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB**

**Descriptive Statistics**

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
CCI4	5	1.8320E2	11.43241	168.00	197.00
ekstrak	5	48.0000	.70711	47.00	49.00
olive_oil	5	47.6000	4.39318	43.00	54.00
curliv	5	1.0540E2	16.53179	89.00	131.00
dosisI	5	79.0000	3.16228	75.00	83.00
dosisII	5	79.4000	5.68331	73.00	88.00
dosisIII	5	85.0000	4.52769	80.00	90.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		CCI4	esktrak	olive_oil	curliv	dosisl	dosislI	dosislII
N		5	5	5	5	5	5	5
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	1.8320E2	48.0000	47.6000	1.0540E2	79.0000	79.4000	85.0000
	Std. Deviation	1.14324E1	.70711	4.39318	1.65318E1	3.16228	5.68331	4.52769
Most Extreme Differences	Absolute	.163	.300	.242	.273	.136	.189	.212
	Positive	.136	.300	.242	.273	.136	.189	.212
	Negative	-.163	-.300	-.148	-.161	-.136	-.135	-.212
Kolmogorov-Smirnov Z		.363	.671	.541	.610	.305	.423	.473
Asymp. Sig. (2-tailed)		.999	.759	.931	.851	1.000	.994	.979
a. Test distribution is Normal.								

Oneway

Descriptives

ALT								
					95% Confidence Interval for Mean			
					Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error				
1	5	1.8320E2	11.43241	5.11273	169.0048	197.3952	168.00	197.00
2	5	48.0000	.70711	.31623	47.1220	48.8780	47.00	49.00
3	5	47.6000	4.39318	1.96469	42.1452	53.0548	43.00	54.00
4	5	1.0540E2	16.53179	7.39324	84.8731	125.9269	89.00	131.00
5	5	79.0000	3.16228	1.41421	75.0735	82.9265	75.00	83.00
6	5	79.4000	5.68331	2.54165	72.3432	86.4568	73.00	88.00
7	5	85.0000	4.52769	2.02485	79.3781	90.6219	80.00	90.00
Total	35	89.6571	43.94511	7.42808	74.5615	104.7528	43.00	197.00

Test of Homogeneity of Variances

ALT

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.422	6	28	.001

ANOVA

ALT					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	63713.486	6	10618.914	152.759	.000
Within Groups	1946.400	28	69.514		
Total	65659.886	34			



Multiple Comparisons

ALT  
Scheffe

(I) kelompo k	(J) kelompo k	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	135.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	115.0022	155.3978
	3	135.60000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	115.4022	155.7978
	4	77.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	57.6022	97.9978
	5	104.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	84.0022	124.3978
	6	103.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	83.6022	123.9978
	7	98.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	78.0022	118.3978
2	1	-135.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-155.3978	-115.0022
	3	.40000	5.27311	1.000	-19.7978	20.5978
	4	-57.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-77.5978	-37.2022
	5	-31.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.001	-51.1978	-10.8022
	6	-31.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-51.5978	-11.2022
	7	-37.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-57.1978	-16.8022
3	1	-135.60000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-155.7978	-115.4022
	2	-.40000	5.27311	1.000	-20.5978	19.7978
	4	-57.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-77.9978	-37.6022
	5	-31.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-51.5978	-11.2022
	6	-31.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-51.9978	-11.6022
	7	-37.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-57.5978	-17.2022
4	1	-77.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-97.9978	-57.6022
	2	57.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	37.2022	77.5978
	3	57.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	37.6022	77.9978
	5	26.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.004	6.2022	46.5978
	6	26.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.005	5.8022	46.1978
	7	20.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.046	.2022	40.5978
5	1	-104.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-124.3978	-84.0022
	2	31.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.001	10.8022	51.1978
	3	31.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	11.2022	51.5978
	4	-26.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.004	-46.5978	-6.2022
	6	-.40000	5.27311	1.000	-20.5978	19.7978
	7	-6.00000	5.27311	.969	-26.1978	14.1978
6	1	-103.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-123.9978	-83.6022
	2	31.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	11.2022	51.5978
	3	31.80000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	11.6022	51.9978
	4	-26.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.005	-46.1978	-5.8022
	5	.40000	5.27311	1.000	-19.7978	20.5978
	7	-5.60000	5.27311	.978	-25.7978	14.5978
7	1	-98.20000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	-118.3978	-78.0022
	2	37.00000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	16.8022	57.1978
	3	37.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.000	17.2022	57.5978
	4	-20.40000 <sup>*</sup>	5.27311	.046	-40.5978	-.2022
	5	6.00000	5.27311	.969	-14.1978	26.1978
	6	5.60000	5.27311	.978	-14.5978	25.7978

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

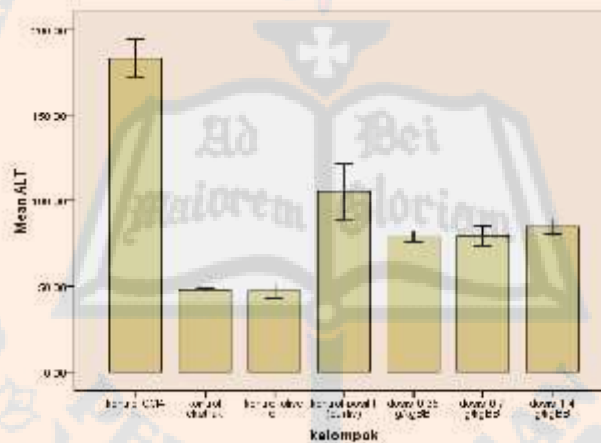
### Homogeneous Subsets

ALT

Scheffe

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3	5	47.6000			
2	5	48.0000			
5	5		79.0000		
6	5		79.4000		
7	5		85.0000		
4	5			1.0540E2	
1	5				1.8320E2
Sig.		1.000	.969	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



**Lampiran 11. Analisis statistik aktivitas serum AST perlakuan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. setelah induksi karbon tetraklorida dosis 2 ml/kgBB**

### NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
CCl4	5	4.7680E2	31.87789	441.00	521.00
ekstrak	5	64.6000	2.70185	61.00	68.00
olive_oil	5	60.2000	5.26308	55.00	69.00
curliv	5	3.7700E2	34.22718	344.00	419.00
dosisI	5	1.3860E2	7.16240	128.00	147.00
dosisII	5	1.3700E2	12.62933	128.00	159.00
dosisIII	5	1.6700E2	7.93725	158.00	179.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		CCI4	esktrak	olive_oil	curliv	dosisl	dosislI	dosislII
N		5	5	5	5	5	5	5
Normal Parameters <sup>a</sup>	Mean	4.7680E2	64.6000	60.2000	3.7700E2	1.3860E2	1.3700E2	1.6700E2
	Std. Deviation	3.18779E1	2.70185	5.26308	3.42272E1	7.16240	1.26293E1	7.93725
Most Extreme Differences	Absolute	.172	.159	.315	.225	.212	.332	.250
	Positive	.172	.123	.315	.225	.133	.332	.250
	Negative	-.131	-.159	-.162	-.193	-.212	-.238	-.150
Kolmogorov-Smirnov Z		.385	.355	.705	.503	.473	.741	.559
Asymp. Sig. (2-tailed)		.998	1.000	.703	.962	.979	.642	.914
a. Test distribution is Normal.								

Oneway

Descriptives

AST								
					95% Confidence Interval for Mean			
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
1	5	4.7680E2	31.87789	14.25623	437.2184	516.3816	441.00	521.00
2	5	64.6000	2.70185	1.20830	61.2452	67.9548	61.00	68.00
3	5	60.2000	5.26308	2.35372	53.6650	66.7350	55.00	69.00
4	5	3.7700E2	34.22718	15.30686	334.5013	419.4987	344.00	419.00
5	5	1.3860E2	7.16240	3.20312	129.7067	147.4933	128.00	147.00
6	5	1.3700E2	12.62933	5.64801	121.3186	152.6814	128.00	159.00
7	5	1.6700E2	7.93725	3.54965	157.1446	176.8554	158.00	179.00
Total	35	2.0303E2	151.74737	25.64999	150.9015	255.1556	55.00	521.00

Test of Homogeneity of Variances

AST

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.508	6	28	.000

ANOVA

AST					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	772940.971	6	128823.495	361.211	.000
Within Groups	9986.000	28	356.643		
Total	782926.971	34			

Multiple Comparisons

AST  
Scheffe

(I) kelompo k	(J) kelompo k	Mean Difference (I- J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	412.20000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	366.4507	457.9493
	3	416.60000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	370.8507	462.3493
	4	99.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	54.0507	145.5493
	5	338.20000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	292.4507	383.9493
	6	339.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	294.0507	385.5493
	7	309.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	264.0507	355.5493
2	1	-412.20000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-457.9493	-366.4507
	3	4.40000	11.94392	1.000	-41.3493	50.1493
	4	-312.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-358.1493	-266.6507
	5	-74.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-119.7493	-28.2507
	6	-72.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-118.1493	-26.6507
	7	-102.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-148.1493	-56.6507
3	1	-416.60000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-462.3493	-370.8507
	2	-4.40000	11.94392	1.000	-50.1493	41.3493
	4	-316.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-362.5493	-271.0507
	5	-78.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-124.1493	-32.6507
	6	-76.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-122.5493	-31.0507
	7	-106.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-152.5493	-61.0507
4	1	-99.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-145.5493	-54.0507
	2	312.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	266.6507	358.1493
	3	316.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	271.0507	362.5493
	5	238.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	192.6507	284.1493
	6	240.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	194.2507	285.7493
	7	210.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	164.2507	255.7493
5	1	-338.20000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-383.9493	-292.4507
	2	74.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	28.2507	119.7493
	3	78.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	32.6507	124.1493
	4	-238.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-284.1493	-192.6507
	6	1.60000	11.94392	1.000	-44.1493	47.3493
	7	-28.40000	11.94392	.481	-74.1493	17.3493
6	1	-339.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-385.5493	-294.0507
	2	72.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	26.6507	118.1493
	3	76.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	31.0507	122.5493
	4	-240.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-285.7493	-194.2507
	5	-1.60000	11.94392	1.000	-47.3493	44.1493
	7	-30.00000	11.94392	.414	-75.7493	15.7493
7	1	-309.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-355.5493	-264.0507
	2	102.40000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	56.6507	148.1493
	3	106.80000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	61.0507	152.5493
	4	-210.00000 <sup>*</sup>	11.94392	.000	-255.7493	-164.2507
	5	28.40000	11.94392	.481	-17.3493	74.1493
	6	30.00000	11.94392	.414	-15.7493	75.7493

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

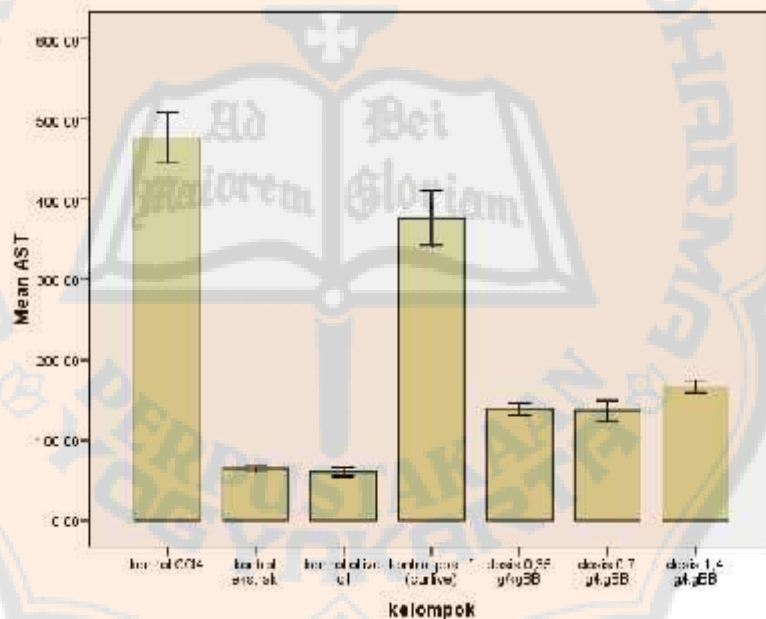
## Homogeneous Subsets

AST

Scheffe

kelompok	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
3	5	60.2000			
2	5	64.6000			
6	5		1.3700E2		
5	5		1.3860E2		
7	5		1.6700E2		
4	5			3.7700E2	
1	5				4.7680E2
Sig.		1.000	.414	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.



## Lampiran 12. Perhitungan % proteksi dan % daya hepatoprotektif

Rumus perhitungan % proteksi hepatoprotektif :

$$\frac{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol olive oil}) - (\text{Aktivitas ALT perlakuan} - \text{kontrol olive oil})}{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol olive oil})} \times 100\%$$

Rumus perhitungan % daya hepatoprotektif :

$$\frac{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol positif}) - (\text{Aktivitas ALT perlakuan} - \text{kontrol positif})}{(\text{kontrol hepatotoksin} - \text{kontrol positif})} \times 100\%$$

**Perhitungan %proteksi hepatoprotektif ALT serum :**

1. Perlakuan dosis 350mg/kgBB (po)+ induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 47,6) - (79,0 - 47,6)}{(183,2 - 47,6)} \times 100\% = 76,8 \%$$

2. Perlakuan dosis 700mg/kgBB (po) + induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 47,6) - (79,4 - 47,6)}{(183,2 - 47,6)} \times 100\% = 76,5 \%$$

3. Perlakuan dosis 1400 mg/kgBB (po) + induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 47,6) - (85,0 - 47,6)}{(183,2 - 47,6)} \times 100\% = 72,4 \%$$

4. Perlakuan kontrol positif *Curliv*<sup>®</sup> dosis 4,05 ml/kgBB (po) + induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 47,6) - (105,4 - 47,6)}{(183,2 - 47,6)} \times 100\% = 57,3 \%$$

**Perhitungan % daya hepatoprotektif ALT serum :**

5. Perlakuan dosis 350mg/kgBB (po)+ induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 105,4) - (79,0 - 105,4)}{(183,2 - 105,4)} \times 100\% = 133,9 \%$$

6. Perlakuan dosis 700mg/kgBB (po) + induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 105,4) - (79,4 - 105,4)}{(183,2 - 105,4)} \times 100\% = 133,4 \%$$

7. Perlakuan dosis 1400 mg/kgBB (po) + induksi karbon tetraklorida :

$$\frac{(183,2 - 105,4) - (85,0 - 105,4)}{(183,2 - 105,4)} \times 100\% = 126,2 \%$$

**Lampiran 13. Perhitungan konversi dosis untuk manusia**

- Angka konversi tikus 200 g ke manusia 70kg = 56,00
- Dosis untuk manusia = Dosis untuk tikus 200 gram x angka konversi manusia.

**Lampiran 14. Perhitungan penetapan peringkat dosis ekstrak etanol biji*****Persea americana* Mill. kelompok perlakuan**

Penetapan peringkat dosis didasarkan pada :

- Bobot tikus paling besar = 250 gram
- Konsentrasi ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. yang dapat dimasukkan dan dikeluarkan melalui spuit oral yaitu 7% atau 70mg/ml
- Volume maksimal pemberian oral yaitu 5 ml

Maka dosis tertinggi dapat ditentukan sebagai berikut :

$$BB \times D = C \times V$$

Berat Badan x Dosis = Konsentrasi x Volume Pemberian

$$0,250 \text{ kg} \times D = 70\text{mg/ml} \times 5 \text{ ml}$$

$$D = 1400 \text{ mg/kgBB}$$

- Dosis rendah dan dosis tengah ditentukan dengan menurunkan dua kelipatan dari dosis tertinggi sehingga diperoleh dosis 350 mg/kgBB dan 700 mg/kgBB
- Perhitungan konversi dari tikus 200 gram ke manusia 70kg = 56,00
- Dosis untuk tikus = 1400 mg/kgBB = 1,400 g/kgBB  
 $= 0,0014 \text{ g/gBB tikus}$   
 $= 0,2800 \text{ g} / 200\text{gBB tikus}$
- Dosis untuk manusia 70 kg = 56.00 x 0.2800 g  
 $= 15,68 \text{ g} / 70\text{kgBB manusia}$
- Dosis untuk manusia 50 kg =  $\frac{15,68}{70} \times 50$   
 $= 11,2 \text{ g} / 50\text{kgBB}$

**Maka penetapan dosis ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. sebagai berikut :**

- Ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. dosis 350mg/kgBB atau 0,350 g /kgBB tikus :  
 $0,350 \text{ g} / \text{kgBB} = 0,00035 \text{ g/gBB} = 0,07 \text{ g} / 200\text{gBB}$

$$\begin{aligned}\text{maka dosis konversi untuk manusia } 70\text{kgBB} &= 0,07 \text{ g}/200\text{gBB} \times 56,00 \\ &= 3,92 \text{ g } /70\text{kgBB} \\ &= 2,8 \text{ g } /50\text{kgBB}\end{aligned}$$

- Ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. dosis 700mg/kgBB atau 0,700 g /kgBB tikus :

$$0,700 \text{ g } / \text{kgBB} = 0,00070 \text{ g/gBB} = 0,14 \text{ g} / 200\text{gBB}$$

$$\begin{aligned}\text{maka dosis konversi untuk manusia } 70\text{kgBB} &= 0,14 \text{ g}/200\text{gBB} \times 56,00 \\ &= 7,84 \text{ g } /70\text{kgBB} \\ &= 5,6 \text{ g } /50\text{kgBB}\end{aligned}$$

- Ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. dosis 1400mg/kgBB atau 1,4 g /kgBB tikus :

$$1,4 \text{ g } / \text{kgBB} = 0,0014 \text{ g/gBB} = 0,28 \text{ g} / 200\text{gBB}$$

$$\begin{aligned}\text{maka dosis konversi untuk manusia } 70\text{kgBB} &= 0,28 \text{ g}/200\text{gBB} \times 56,00 \\ &= 15,68 \text{ g } /70\text{kgBB} \\ &= 11,2 \text{ g } /50\text{kgBB}\end{aligned}$$

#### Lampiran 15. Penetapan kadar air serbuk biji *P.americana*

Penetapan kadar air serbuk dilakukan dengan metode gravimetri menggunakan alat *moisture balance*. Pemanasan serbuk biji *P.americana* dilakukan pada suhu 105<sup>0</sup> C selama 15 menit

**Tabel XIV.** Penetapan kadar air ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill.

Menit ke-	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III
5	4,695	4,691	4,709
10	4,636	4,646	4,646
15	4,624	4,636	4,63
20	4,619	4,632	4,625
25	4,615	4,629	4,621

Kadar air =

$$\frac{\text{bobot sampel sebelum pemanasan} - \text{bobot sampel setelah pemanasan}}{\text{bobot sampel sebelum pemanasan}} \times 10\%$$



- Replikasi I = 7,5 %
- Replikasi II = 7,2 %
- Replikasi III = 7,4 %

Kadar air serbuk adalah 7,4 %. Kadar air ini sudah memenuhi persyaratan kurang dari 10%.

**Lampiran 16. Hasil rendemen ekstrak etanol biji *P.americana***

**Tabel XV.** Hasil rendemen ekstrak etanol biji *P.americana*

	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3	Cawan 4	Cawan 5
Cawan kosong	61,07	61,68	66,74	69,83	59,42
Cawan + ekstrak	65,38	66,45	71,10	74,02	64,05
Rendemen	4,31	4,77	4,36	4,19	4,63

$$\begin{aligned}
 \text{Rata-rata rendemen} &= \frac{\text{rep 1} + \text{rep 2} + \text{rep 3} + \text{rep 4} + \text{rep 5} + \text{rep 6}}{6} \\
 &= \frac{4,31 + 4,77 + 4,36 + 4,19 + 4,63}{6} \\
 &= 4,45 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \% \text{ rendemen ekstrak kental} &= \frac{57,85 \text{ gram}}{320 \text{ gram}} \times 100\% \\
 &= 18,08 \%
 \end{aligned}$$

**Lampiran 17. Bobot pengeringan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill. hingga terbentuk ekstrak kental**

**Tabel XVI.** Pengeringan ekstrak etanol biji *Persea americana* Mill.

Berat cawan kosong	Jam ke	0	2	4	6	8	10
		08.00	10.00	12.00	14.00	16.00	18.00
61,07	berat	121,62	90,73	75,68	66,72	66,45	66,45
61,68	ekstrak	124,03	93,7	76,3	65,59	65,38	65,38
66,74	(gram)	118,079	89,72	75,09	74,06	71,1	71,1

**Lampiran 18. Pengukuran validitas dan realibilitas****Tabel XVII.** Hasil validitas dan realibilitas

Serum kontrol (range 33,9-48,9 U/l)

x (U/l)	$\bar{x}$	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
36	35,8	0,2	0,04
37		1,2	1,44
36		0,2	0,04
35		0,8	0,64
35		0,8	0,64
			= 2,8

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}}$$

$$= \sqrt{\frac{2,8}{4}}$$

$$= 0,83$$

Range  $x \pm SD$ 

$$= 35,8 \pm 0,83$$

$$= 36,63 - 34,97$$

$$CV = \frac{SD}{\bar{x}}$$

$$= \frac{0,83}{35,8} \times 100\%$$

$$= 2,3 \%$$

### BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi dengan judul “Efek Hepatoprotektif Pemberian Jangka Panjang Ekstrak Etanol Biji *Persea Americana* Mill. Terhadap Aktivitas ALT Dan AST Serum Pada Tikus Terinduksi Karbon Tetraklorida” memiliki nama lengkap Komang Ayu Nopitasari. Penulis lahir di Singaraja pada tanggal 06 November 1992, merupakan putri kedua dari dua bersaudara dalam keluarga pasangan I ketut Sukasana dan Ni Nyoman Santiari. Penulis mengawali masa pendidikannya di TK Santo Paulus Singaraja (1996 – 1998) kemudian melanjutkan pendidikan tingkat Sekolah Dasar di SD Santo Paulus Singaraja (1998 – 2004). Pendidikan Sekolah Menengah Pertama ditempuh oleh penulis di SMP Negeri 1 Singaraja (2004 – 2007), kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 1 Singaraja (2007 – 2010). Penulis kemudian melanjutkan pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma Yogyakarta pada tahun 2010. Semasa menempuh kuliah, penulis aktif dalam berbagai kepanitiaan. Penulis pernah menjadi anggota divisi P3K Turnamen Futsal KMHD se-Yogyakarta (2010), anggota divisi Humas Acara Dies Natalis Keluarga Putra Bali (KPB) Purantara ke-53 (2010), anggota divisi Acara panitia Nyepi Tahun Baru Caka 1933 se-Yogyakarta (2011), anggota divisi Dekorasi dan Dokumentasi Pharmacy Performance (2011), anggota divisi Konsumsi Acara Paingan Festival (2011), anggota divisi Dekorasi dan Dokumentasi Kegiatan Desa Mitra (2012), anggota divisi Humas *Pharmacy Competition* (2011). Penulis pernah mengikuti Pengabdian Masyarakat (PM) dengan tema penyuluhan, “Waspada Demam Berdarah” (2011). Penulis pernah menjadi asisten praktikum Botani Farmasi (2012 dan 2013).